

**PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM PENGENCER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN KAMBING BOER SELAMA  
SIMPAN DINGIN**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Angga Setiawan**

**NIM. 145050100111069**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM PENGENCER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN KAMBING BOER SELAMA  
SIMPAN DINGIN**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Angga Setiawan**

**NIM. 145050100111069**

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk  
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas  
Peternakan Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM PENGENCER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN KAMBING BOER SELAMA  
SIMPAN DINGIN**

**SKRIPSI**

Oleh :

Angga Setiawan

NIM. 145050100111069

Telah dinyatakan lulus dalam ujian sarjana  
Pada Hari/Tanggal: Senin/28 Mei 2018

**Pembimbing Utama :**

Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M.Si

NIP. 19640110 198802 2 001

**Pembimbing Pendamping :**

Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS

NIP. 19600512 198701 1 001

**Dosen Penguji :**

Prof. Dr. Ir. Mochammad Junus, MS

NIP. 19550302 198103 1 004

Dr. Ir. Marjuki, M.Sc

NIP. 19630604 198903 1 001

Ir. Mustakim, MP

NIP. 19580604 198703 1 002

Tanda tangan

Tanggal

4-7-2018

2-7-2018

2/7/2018

28-6-2018

4-6-2018

Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan

Universitas Brawijaya

(Prof. Dr. Agr. Sc. Ir. Suyadi, MS)

NIP. 19620403 1988701 1 001

Tanggal: 6-7-2018



## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan 22 tahun lalu, hari Selasa tanggal 27 Agustus 1996 sebagai putra Bapak Sukarmin dan Ibu Kasmianti. Pendidikan formal yang pernah ditempuh yaitu tahun 2008 lulus SDN Kenongorejo 3, tahun 2011 lulus SMPN 2 Bringin, tahun 2014 lulus SMAN 1 Karangjati dan pada tahun yang sama penulis diterima sebagai Mahasiswa Strata (S-1) Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dengan beasiswa BIDIKMISI.

Selama menjadi Mahasiswa, penulis cukup aktif dalam organisasi Barisan Orang Sukses (BOS) dan Kelompok Ilmiah Mahasiswa (KIM) Fapet UB. Tahun 2016 penulis menjadi Staf Ahli 1 PRD KIM Fapet UB dan pada tahun 2017 menjadi Manajer PRD KIM Fapet UB. Penulis juga berkesempatan menjadi Asisten Praktikum Matakuliah Ilmu Produksi Ternak Potong tahun 2016-2017 dan Asisten Praktikum Matakuliah Manajemen Produksi Ternak Ruminansia tahun 2017.

Penulis juga aktif menulis karya tulis ilmiah dan mendapatkan Juara II Rector Cup PKM Maba bidang Karsa Cipta di tahun 2015. Juara I LKTIN Lomba Bidang Studi Kimia di Universitas Tanjungpura pada tahun 2016. Tahun 2017 penulis mendapatkan Juara I LKTI PHINISI III di Universitas Hasanuddin. Terakhir penulis mendapatkan Juara I LKTIN Semarang Tani di Universitas Riau pada tahun 2018.

Penulis pernah melaksanakan Praktek Kerja Lapangan pada 10 Juli – 18 Agustus 2017, dengan judul “Tatalaksana Produksi Embrio Sapi Simmental dan Limousin di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang-Bogor”. Setelah itu, penulis melakukan penelitian yang ditulis dalam bentuk laporan Skripsi

dengan Judul “Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Simpan Dingin”



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, serta sholawat dan salam terhaturkan kepada Rasulullah Muhammad SAW, sehingga skripsi dengan judul “Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Simpan Dingin” dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Terselesaikannya penelitian dan skripsi ini tidak lepas dari pihak-pihak tertentu, oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua Bapak Sukarmin dan Ibu Kasmianti., yang telah memberikan perhatian, kasih sayang, dukungan, dan doa yang selalu terpanjatkan.
2. Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M. Si., selaku pembimbing utama; dan Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS., selaku pembimbing pendamping yang telah sabar membimbing, mengarahkan dan memberi saran selama penelitian dan pembuatan laporan skripsi.
3. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya;
4. Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua Jurusan Peternakan; Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP., selaku Ketua Program Studi Sarjana Peternakan; dan Ir. Nur Cholis, MS., selaku Ketua Bagian Minat Produksi Ternak;
5. Ir. Agus Budiarto, MS., selaku Ketua Laboratorium Sumbersekar yang telah memberikan ijin penelitian.

6. Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Nur Ihsan, MS., selaku ketua penelitian PUPTN yang telah memfasilitasi penelitian.
7. Achadiyah Rachmawati, S.Pt, M.Si yang telah membantu dan mengarahkan dalam penelitian, serta memfasilitasi peralatan laboratorium selama penelitian.
8. Staf Laboratorium Reproduksi Ternak dan Laboratorium Lapang Sumbersekar yang telah membantu dalam kelancaran proses penelitian.
9. Anggota Tim Penelitian, yaitu Aprilia Retno Anggraini, Desy Dwi Afifah, Sulaiman dan Uzawajul Mutoharoh, yang telah bekerjasama dalam meyukseskan dan menyelesaikan penelitian ini.
10. Achmad Iqbal, Wiwik S, Aprilia RA, Dwi H, Nopya NS, Uzawajul M, Sulaiman, Fajrul A, Florida M, dan M. Helmi selaku Dewan Penasihat Organisasi Kelompok Ilmiah Mahasiswa (DPO KIM) FAPET UB 2018 yang telah memberi kritik, saran dan masukan
11. Abraham EN, Sulaiman, Danik FNC, Alfa F, Omar S, dan Bisri M selaku Anggota Kontrakan Joyo Raharjo 109 yang telah memberi kritik dan dukungan.
12. Bondan Hanung G, Ridwan D, Danar S, Wahyu TSM, dan Dedik R, yang selalu memberi doa dan dukungan

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan bagi penulis dan pembaca.

Malang, Juli 2018

Penulis

# **EFFECT OF SUPPLEMENTATION OF MORINGA OLEIFERA LEAVES EXTRACT IN SKIM MILK-EGG YOLK DILUENT TO SEMEN QUALITY OF BOER GOAT DURING CHILLED PRESERVATION**

Angga Setiawan<sup>1)</sup>, Sri Wahjuningsih<sup>2)</sup>, and Gatot Ciptadi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Student of Animal Production Department, Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University

<sup>2)</sup> Lecturer of Animal Production Department, Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University

e-mail: [anggasetyaone27@gmail.com](mailto:anggasetyaone27@gmail.com)

## **ABSTRACT**

The aim of this research was to examine quality of Boer liquid semen in skim milk egg-yolk (SMEY) diluent with supplementation of moringa oleifera leaves extract (MOLE). The materials used in this research is semen of Boer with 70 - 80% which was collected with an artificial vagina. The research using Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments, those were T0 (100% SMEY), T1 (100% SMEY + 1% MOLE), T2 (100% SMEY + 3% MOLE), T3 (100% SMEY + 5% MOLE), and T4 (100% SMEY + 7% MOLE). Each treatment was observed at the time of saving hours 0, 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 24<sup>th</sup>, 48<sup>th</sup>, and 72<sup>nd</sup> with repeated 10 times. The variables were the percentage of motility, viability, abnormality and membrane integrity. The data were analyzed using Analysis of Variance, if there was a significant or significantly differences of the treatments then continued by Duncan's Multiple Range Test. The results showed that supplementation of moringa oleifera leaves extract in skim milk-egg yolk diluent, were significantly different effect ( $P < 0.01$ ) in the percentage of motility, viability, and membrane integrity, and gave affects significant ( $P < 0.05$ ) in



the percentage of abnormality. Supplementation of 5% moringa leaves extract into skim milk-egg yolk diluent results greater in motility, viability, abnormality, and membrane integrity.

**Keywords:** moringa oleifera, skim milk, semen, preservation



**PENGARUH SUPLEMENTASI EKSTRAK DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM PENGENCER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN KAMBING BOER SELAMA  
SIMPAN DINGIN**

Angga Setiawan<sup>1)</sup>, Sri Wahjuningsih<sup>2)</sup>, and Gatot Ciptadi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

<sup>2)</sup> Dosen Produksi Ternak Fakultas Peternakan  
Universitas Brawijaya

e-mail: [anggasetyaone27@gmail.com](mailto:anggasetyaone27@gmail.com)

**RINGKASAN**

Implementasi IB menggunakan semen cair pada ternak kambing masih terkendala penggunaan jenis pengencer yang tepat sehingga mampu memperlambat penurunan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa selama penyimpanan dan inseminasi pada betina. Kelor (*Moringa oleifera*) memiliki kandungan antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas, sehingga diharapkan memperlambat penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa dalam pengencer.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi ekstrak daun kelor pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen kambing Boer selama simpan dingin. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi pengetahuan dan pedoman alternatif untuk mengurangi kerusakan spermatozoa kambing Boer selama simpan dingin.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kambing Boer dengan PI<sub>6</sub> (berumur 2,5-3 tahun) yang ditampung semennya menggunakan vagina buatan. Semen kambing ditampung 2 kali per minggu dengan semen segar yang digunakan yaitu mempunyai motilitas individu 70% - 80% dan motilitas massa 2+ (++). Bahan pengencer yang

digunakan adalah susu skim dan kuning telur yang telah disuplementasi dengan ekstrak daun kelor.

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah percobaan laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan suplementasi ekstrak daun kelor pada pengencer susu skim kuning telur yaitu P0 (100% SSKT), P1 (100% SSKT + 1% EDK), P2 (100% SSKT + 3% EDK), P3 (100% SSKT + 5% EDK), dan P4 (100% SSKT + 7% EDK). Masing-masing perlakuan diamati pada waktu simpan jam ke-0, 2, 4, 24, 48, dan 72 dengan dilakukan ulangan sebanyak 10 kali. Variabel dalam penelitian ini adalah persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa.

Hasil pengamatan kualitas spermatozoa selama simpan dingin 72 jam pada perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 yaitu motilitas individu sebesar  $31,50 \pm 4,74\%$ ,  $35,00 \pm 4,08\%$ ,  $37,00 \pm 5,37\%$ ,  $42,50 \pm 4,25\%$ , dan  $38,00 \pm 4,22\%$ , viabilitas sebesar  $42,07 \pm 4,41\%$ ,  $46,43 \pm 4,41\%$ ,  $47,81 \pm 3,68\%$ ,  $53,12 \pm 5,99\%$  dan  $48,25 \pm 4,77\%$ , abnormalitas sebesar  $5,26 \pm 0,83\%$ ,  $4,99 \pm 1,72\%$ ,  $4,69 \pm 0,78\%$ ,  $4,08 \pm 0,98\%$  dan  $4,21 \pm 0,83\%$ , dan integritas membran sebesar  $39,18 \pm 5,14\%$ ,  $43,43 \pm 5,42\%$ ,  $46,78 \pm 3,75\%$ ,  $50,63 \pm 5,81\%$ , dan  $47,12 \pm 5,49\%$ . Hasil menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas, viabilitas dan integritas membran, dan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) pada persentase abnormalitas. Penambahan ekstrak daun kelor sebesar 5% dalam pengencer susu skim kuning telur menghasilkan persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa kambing boer yang lebih baik.

## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Kegunaan .....	5
1.5 Kerangka Pikir.....	5
1.6 Hipotesis .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kambing Boer .....	8
2.2 Karakteristik Semen Kambing.....	9
2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen .....	12
2.4 Pengenceran Semen.....	13
2.5 Pengencer Susu Skim Kuning Telur.....	15
2.6 Penyimpanan Semen .....	16
2.7 Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ).....	18

### **BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN**

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25
3.2 Materi Penelitian .....	25
3.3 Metode Penelitian.....	26
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	26
3.3.2 Prosedur Penelitian.....	27
3.3.2.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) .....	27
3.3.2.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kelor (EDK) .....	28
3.3.2.3 Pembuatan Larutan <i>Hypoosmotic</i> <i>Swelling Test</i> (HOST).....	29
3.3.2.4 Pembuatan Pengencer Susu Skim Kuning Telur (SSKT) .....	30
3.3.2.5 Pembuatan Pengencer Susu Skim Kuning Telur (SSKT) dengan Suplementasi Ekstrak Daun Kelor (EDK) .....	31
3.3.2.6 Penampungan Semen Kambing Boer..	33
3.3.2.7 Prosedur Pengenceran Semen.....	34
3.3.2.8 Evaluasi Semen.....	34
3.3.3 Kerangka Operasional Penelitian .....	39
3.4 Variabel Pengamatan.....	40
3.5 Analisis Data .....	41
3.6 Batasan Istilah .....	42

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Uji Kualitas Semen Segar Kambing Boer .....	44
4.2 Persentase Motilitas Individu Spermatozoa Selama Simpan Dingin .....	48
4.3 Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Simpan Dingin.....	55
4.4 Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Simpan Dingin.....	61
4.5 Persentase Integritas Membran Selama Simpan Dingin.....	68

## **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan.....	78
5.2 Saran .....	78

## **DAFTAR PUSTAKA .....**

**79**

## **LAMPIRAN.....**

**95**

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Karakteristik semen segar kambing Boer.....	12
2. Kandungan nilai gizi kelor kering (g/100 g) .....	21
3. Kandungan asam amino essensial per 100 g daun kelor.....	22
4. Komposisi pengencer susu skim kuning telur.....	30
5. Tabel Analisis Ragam .....	41
6. Tabel Uji Jarak Berganda Duncan taraf 1% .....	42
7. Hasil evaluasi semen segar kambing Boer.....	44
8. Rataan persentase motilitas individu spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin..	49
9. Rataan persentase viabilitas spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin .....	56
10. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin .....	63
11. Rataan persentase integritas membran spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin..	71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir Penelitian .....	7
2. Kambing Boer Jantan (a), Kambing Boer Betina (b). .....	8
3. Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ).....	19
4. Prosedur Persiapan Pengencer P1 .....	31
5. Prosedur Persiapan Pengencer P2 .....	32
6. Prosedur Persiapan Pengencer P3 .....	32
7. Prosedur Persiapan Pengencer P4.....	33
8. Prosedur Pengenceran Semen .....	34
9. Kerangka Operasional Penelitian.....	39
10. Viabilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X .....	55
11. Abnormalitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X .....	62
12. Spermatozoa dengan uji HOST yang diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X.....	69
13. Bahan Ekstrak dan Pengencer .....	155
14. Prosedur Penelitian .....	156



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kualitas Semen Segar secara Makroskopis dan Mikroskopis.....	95
2. Data Motilitas Spermatozoa (%) .....	97
3. Data Viabilitas Spermatozoa (%) .....	99
4. Data Abnormalitas Spermatozoa (%) .....	102
5. Data Integritas Membran Spermatozoa (%) .....	105
6. Analisis Statistik Motilitas Spermatozoa.....	108
7. Analisis Statistik Viabilitas Spermatozoa.....	120
8. Analisis Statistik Abnormalitas Spermatozoa .....	132
9. Analisis Statistik Integritas Membran Spermatozoa .....	142
10. Estimasi kebutuhan Pengencer dan Ekstrak Daun Kelor.....	154
11. Materi Penelitian .....	155
12. Prosedur Penelitian .....	156

## DAFTAR SINGKATAN

%	: Persen
°C	: Derajat celcius
µm	: Mikro meter
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
cm	: Centi meter
CRD	: <i>Completely Randomized Design</i>
dkk	: dan kawan kawan
DMRT	: <i>Duncan Multiple Range Test</i>
EDK	: Ekstrak Daun Kelor
<i>et. al</i>	: <i>et alii</i>
g	: Gram
HOST	: <i>Hypoosmotic Swelling Test</i>
IB	: Inseminasi Buatan
Kcal	: Kilo kalori
Kg	: Kilo gram
m	: Meter
mg	: Mili gram
ml	: Mili liter
MLE	: <i>Moringa Leaf Extract</i>
MOLE	: <i>Moringa oleifera Leaves Extract</i>
pH	: <i>potential of Hidrogen</i>
RAL	: Rancang Acak Lengkap
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SSKT	: Susu Skim Kuning Telur
UJBD	: Uji Jarak Berganda Duncan

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Kambing Boer merupakan salah satu jenis ternak kambing penghasil daging dan diminati oleh kalangan peternak. Kambing Boer memiliki ciri-ciri yaitu tubuhnya berwarna putih dan kepala berwarna coklat, bertubuh lebar, panjang, berkaki pendek, berhidung cembung dan bertelinga panjang menggantung. Menurut Nasich (2010) kambing Boer memiliki bobot lahir 3-4 kg dan laju pertumbuhan bobot badan harian berkisar 140-250 g/ekor/hari. Persentase daging pada karkas kambing Boer ini dapat mencapai 40-50% dari bobot badannya. Adanya keunggulan yang dimiliki kambing tipe pedaging ini, maka banyak upaya dilakukan untuk meningkatkan produktivitas dan populasi kambing lokal, yaitu dengan dilakukannya persilangan.

Inseminasi Buatan (IB) sebagai salah satu bioteknologi reproduksi menjadi alternatif untuk mempermudah dilakukannya persilangan. Perkawinan dengan metode IB dapat memaksimalkan penggunaan semen seekor pejantan, karena bisa untuk mengawini banyak betina. Menurut Ax, Dally, Didion, Lenz, Love, Verner, Hafez, *and* Bellin (2008), IB juga mampu meningkatkan efisiensi reproduksi. Penerapan IB pada kambing saat ini masih menggunakan semen beku. Padahal penggunaan semen beku memiliki kekurangan yaitu selain mahal juga menurunkan kualitas spermatozoa setelah pembekuan. Menurut Lessard, Parent, Leclerc, Bailey, *and* Sullivan (2000), sekitar 50% spermatozoa akan mati selama pembekuan dan spermatozoa yang bertahan hidup umumnya mempunyai fertilitas yang rendah. Upaya untuk menghindari

hal tersebut adalah dengan menggunakan semen cair yang di simpan pada suhu 3 – 5 °C.

Implementasi IB pada kambing menggunakan semen cair masih terkendala penggunaan jenis pengencer yang tepat sehingga mampu mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa selama pengenceran dan inseminasi pada betina. Pengenceran semen dilakukan untuk mengurangi kepadatan dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa. Menurut Susilawati (2011) pengencer harus mengandung nutrisi sebagai sumber energi bagi spermatozoa selama penyimpanan, mempunyai daya preservasi tinggi yaitu dapat melindungi spermatozoa dari kejut dingin (*cold shock*), mengandung unsur yang sifat fisik dan kimiawinya hampir sama dengan semen, tidak bersifat racun bagi spermatozoa dan saluran reproduksi betina, harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, menghambat pertumbuhan mikroba serta bersifat sebagai penyangga (*buffer*), dan mudah dalam membuatnya serta harganya terjangkau.

Susu skim merupakan medium isotonik yang mengandung beberapa komponen yang menguntungkan untuk memelihara kelangsungan hidup spermatozoa seperti karbohidrat, lemak dan mineral serta beberapa substansi pelindung untuk proses oksidasi metabolisme spermatozoa. Penggunaan susu skim sebagai pengencer sering dikombinasikan dengan kuning telur karena mengandung zat lipoprotein dan lesitin yang berfungsi melindungi spermatozoa dari pengaruh kejut dingin (*cold shock*) (Widjaya, 2011). Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa semen kambing yang diencerkan dengan susu skim kuning telur menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa yang lebih baik daripada air kelapa kuning telur, namun belum memberikan

hasil fertilitas yang baik (Werdhany, 2003 *dalam* Lubis, Dasrul, Thasmi, dan Akbar., 2013).

Hasil fertilitas yang belum baik tersebut diduga berkaitan dengan ketidakmampuan pengencer susu skim kuning telur untuk mencegah kerusakan membran spermatozoa. Kerusakan ini disebabkan adanya radikal bebas yang dihasilkan oleh proses metabolisme spermatozoa yang terus berlangsung selama penyimpanan dingin. Susilowati (2008), menyatakan bahwa radikal bebas yang bereaksi dengan oksigen akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS), sehingga menyebabkan peroksidasi lemak, dan apabila terjadi produksi radikal bebas secara berlebih akan mengakibatkan stress oksidatif. Tingginya rasio antara asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh, komposisi fosfolipid membran serta rendahnya kolesterol membuat membran spermatozoa kambing mudah mengalami cekaman dingin dan menjadi lebih rentan rusak akibat peroksidasi yang dapat merusak komponen struktural membran (White, 1993 *dalam* Lubis, dkk., 2013). Upaya untuk meminimalkan kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid selama proses pendinginan dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan pada bahan pengencer (Feradis, 2009).

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tanaman yang memiliki kandungan zat antioksidan tinggi terutama pada daunnya. Telah diidentifikasi bahwa daun kelor mengandung antioksidan tinggi dan antimikrobia (Das, Rajkumar, Verma, and Swarup., 2012). Muthukumar, Naveena, Vaithiyanathan, Sen, and Sureshkumar (2012), menyatakan bahwa komponen bioaktif yang cukup tinggi, seperti asam askorbat, karotenoid dan senyawa fenolik sangat berperan dalam memperpanjang masa simpan produk. Menurut Verma, Vijayakumar, Mathela,

and Rao (2009), daun kelor mengandung fenol dalam jumlah banyak yang dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas. Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6% (Foidl, Makkar, and Becker., 2001). Pemberian ekstrak daun kelor dapat menjadi pengganti yang baik untuk komponen antibiotik dari semen sapi karena dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa, integritas akrosom dan morfologi normal sehingga menjaga fertilitas spermatozoa pada simpan suhu 6 °C (Sokunbi, Ajani, Lawanson and Amao., 2015). Berdasarkan fakta tersebut, maka penulis melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan berbagai level ekstrak daun kelor dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen cair kambing Boer selama penyimpanan dingin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat di rumuskan masalah sebagai berikut:

1. Penggunaan semen beku untuk IB memiliki kekurangan yaitu proses yang mahal dan menurunkan kualitas spermatozoa setelah pembekuan, serta mempunyai fertilitas yang rendah.
2. Penyimpanan semen cair mengakibatkan adanya radikal bebas yang dihasilkan oleh proses metabolisme spermatozoa yang terus berlangsung selama penyimpanan dingin.
3. Radikal bebas yang bereaksi dengan oksigen menghasilkan *reactive oxygen species*, dan apabila terjadi produksi radikal bebas secara berlebih pada spermatozoa akan mengakibatkan stres oksidatif.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh suplementasi ekstrak daun kelor dengan level yang berbeda dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen kambing Boer selama penyimpanan dingin.
2. Mengetahui perlakuan terbaik dari suplementasi ekstrak daun kelor dengan level yang berbeda dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen kambing Boer selama penyimpanan dingin.

### 1.4 Kegunaan

Kegunaan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak daun kelor dapat dimanfaatkan sebagai bahan suplementasi dalam pengencer susu skim kuning telur untuk penyimpanan dingin semen cair kambing Boer.
2. Penggunaan ekstrak daun kelor sebanyak 5% dalam pengencer susu skim kuning telur merupakan dosis yang optimum.

### 1.5 Kerangka Pikir

Kambing Boer memiliki keunggulan produktivitas yang tinggi sehingga banyak dilakukan persilangan untuk meningkatkan produktivitas dan populasi kambing lokal. Inseminasi Buatan (IB) sebagai salah satu bioteknologi reproduksi menjadi alternatif untuk mempermudah dilakukannya persilangan. Perkawinan dengan metode IB dapat memaksimalkan penggunaan semen seekor pejantan, karena bisa untuk mengawini banyak betina. Penerapan teknologi IB pada kambing saat ini menggunakan semen beku, akan tetapi proses ini selain mahal juga menurunkan fertilitas

spermatozoa. Upaya menghindari hal tersebut adalah dengan menggunakan semen cair yang di simpan pada suhu 3 – 5 °C.

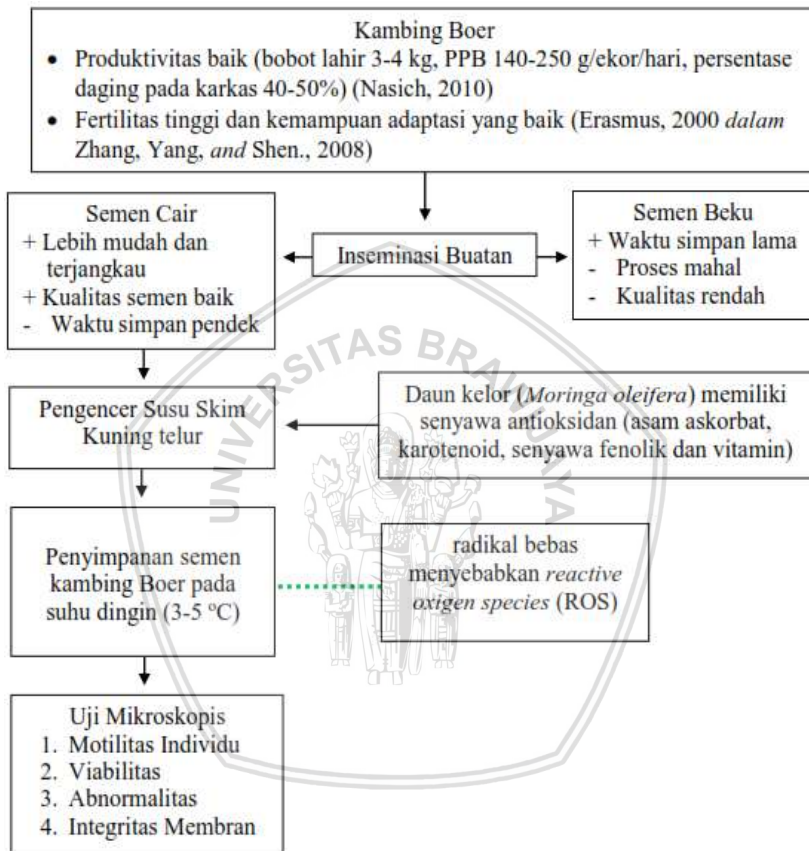
Susu skim merupakan salah satu jenis pengencer semen yang sering dikombinasikan dengan kuning telur karena mengandung zat lipoprotein dan lesitin yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejut dingin. Penggunaan susu skim sebagai bahan pengencer memiliki keuntungan, yaitu harganya terjangkau, mudah didapatkan, dan kadar lemak rendah sehingga mudah dalam pengamatan secara visual dalam pengujian kualitas secara mikroskopis karena tidak ada gangguan oleh butir-butir lemak yang jumlahnya terlalu banyak.

Metabolisme spermatozoa selama penyimpanan dingin terus berlangsung dan menghasilkan produk radikal bebas. Radikal bebas yang berikatan dengan oksigen akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS), sehingga akan menyebabkan peroksidasi lemak. Kondisi ini membuat spermatozoa kambing lebih rentan terhadap kerusakan akibat peroksidasi yang dapat merusak komponen struktural membran.

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tanaman yang memiliki kandungan zat nutrisi tinggi terutama pada daunnya. Daun kelor segar memiliki kandungan fenol sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6% (Foidl *et al.*, 2001). Fenol termasuk senyawa antioksidan yang dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas, sehingga senyawa antioksidan mampu mencegah oksidasi lemak dan mampu mempertahankan kualitas semen kambing Boer dalam simpan dingin. Kualitas semen yang diamati meliputi motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan integritas membran spermatozoa.



Kerangka pikir penelitian ini secara ringkas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

## 1.6 Hipotesis

Suplementasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam pengencer susu skim kuning telur memberikan pengaruh yang nyata terhadap kualitas semen cair kambing Boer selama simpan dingin.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kambing Boer

Kambing adalah ruminansia yang paling produktif dari semua ternak ruminansia baik daerah dalam kondisi tropis ataupun subtropis dan sebagian besar kambing memiliki litter size rata-rata 1,5 atau lebih tinggi. Dua alasan kemampuan kambing untuk bertahan hidup di beberapa daerah yang ekstrim di dunia adalah memiliki toleransi yang luar biasa terhadap tekanan panas dan kemampuan untuk tumbuh walaupun dengan pakan yang berkualitas kurang baik. Kambing sangat cocok untuk daerah pertanian marginal, pertanian kecil atau produksi skala besar di daerah tropis dan subtropis (Dhanda, Taylor, Murray, Pegg, and Shund., 2003).



Gambar 2. Kambing Boer Jantan (a), Kambing Boer Betina (b)

Sumber: <https://tctc.com>

Kambing Boer berasal dari Afrika Selatan, yang merupakan hasil persilangan antara kambing Afrika lokal tipe kaki panjang dengan kambing yang berasal dari India. Kambing ini dapat bertahan hidup di padang penggembalaan yang kering di daerah tropis dan daerah lembab subtropis. Kambing Boer yang dikembangkan adalah memiliki warna

putih dengan bercak-bercak cokelat merah dan dengan pakan yang baik, maka kambing ini menjadi kambing tipe pedaging yang sangat baik (Mason, 2002). Kambing Boer merupakan kambing tipe pedaging yang memiliki karakteristik baik seperti, konformasi tubuh bagus, pertumbuhan yang cepat, kualitas daging yang sangat baik, fertilitas tinggi dan kemampuan beradaptasi yang baik (Erasmus, 2000 *dalam* Zhang *et al.*, 2008).

Karakteristik kambing Boer, yaitu memiliki ciri-ciri bulu tubuh berwarna putih sedangkan bulu pada bagian leher-kepala berwarna gelap. Bagian tanduk melengkung ke belakang dan memiliki badan yang kuat serta gerakan yang gesit. Bentuk tubuhnya simetris dengan perdagingan yang dalam dan merata (American Boer Goat Association, 2001). Kambing Boer mempunyai tanda umum, yaitu tanduk melengkung ke atas dan ke belakang, telinga lebar dan menggantung, hidung cembung, rambut tubuh relatif pendek sampai sedang. Memiliki warna dasar putih dan biasanya dengan kombinasi warna cokelat atau merah bata pada bagian leher dan kepala. Kambing Boer memiliki tinggi badan 75 cm dan berat 115 kg (jantan) dan tinggi badan 55 cm dan berat 50-70 kg (betina) (Dhanda, *et. al.*, 2003). Kambing Boer memiliki bobot lahir 3-4 kg dan laju pertumbuhan bobot badan harian berkisar 140-250 g/ekor/hari. Persentase daging pada karkas kambing Boer ini dapat mencapai mencapai 40-50% dari bobot badannya (Nasich, 2010).

## 2.2 Karakteristik Semen Kambing

Semen adalah cairan atau suspensi semigelatinous yang mengandung sel gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi kelenjar pelengkap saluran reproduksi jantan (seminal

plasma). Bentuk spermatozoa yang sempurna adalah memanjang, yang terdiri dari kepala tumpul yang di dalamnya terdapat nukleus atau inti dan ekor yang mengandung apparatus untuk pergerakan sel. Kepala spermatozoa memiliki akrosom dengan struktur dinding yang rangkap terletak diantara membran plasma bagian *anterior nucleus*, leher menghubungkan kepala dan ekonya (*flagela*) yang dibagi lagi menjadi bagian tengah, pokok, dan akhir yang dibagian-bagian tersebut mempunyai struktur yang berbeda (Susilawati, 2011).

Semen segar tidak dapat bertahan lama pada penyimpanan suhu ruang, karena spermatozoa adalah sel yang mudah sekali mati, untuk itu semen harus dihindarkan dari panas yang berlebihan, penyimpanan yang terlalu lama pada suhu ruang, air atau bahan kimia, berhubungan yang terlalu lama dengan udara luar terutama sinar matahari langsung (Apriyanti, 2012 dalam Anastasia, Isnaini, dan Wahjuningsih., 2015).

Semen kambing berbeda dengan semen sapi, dimana sel-sel sperma sapi lebih suka menggunakan glukosa yang berada dalam kuning telur untuk proses metabolismenya daripada menggunakan fruktosa yang terdapat di dalam semen (Tienhoven, *et al.*, 1952 dalam Widjaya, 2011). Sel spermatozoa kambing memiliki *fosfolipase A2* dalam plasma, dimana adanya enzim *fosfolipase A2* sebagai enzim yang menghidrolisis lesitin kuning telur, sehingga hal ini menyebabkan terjadinya reaksi akrosom dini dan mengakibatkan sel spermatozoa lebih cepat rusak (Hafez, 2004 dalam Lubis, dkk., 2013).

Spermatozoa kambing dan domba memiliki panjang kepala 8 – 10  $\mu\text{m}$ , lebar 4 – 4,5  $\mu\text{m}$ , dan tebal kepala 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$ . pada bagian tengah spermatozoa mempunyai panjang 1,5

– 2 kali panjang kepala dengan diameter 1  $\mu\text{m}$ . panjang ekor spermatozoa adalah 35 – 45  $\mu\text{m}$  dengan diameter 0,4 – 0,8  $\mu\text{m}$ , sehingga panjang keseluruhan mencapai 50 – 70  $\mu\text{m}$ . Volume ejakulat kambing adalah 0,5 – 1,0 ml dengan gerakan spermatozoa pada saat semen ditampung yaitu 50 – 90% dan memiliki jumlah spermatozoa  $18 \times 10^8$  –  $40 \times 10^8$  / ejakulat (Devendra, *and* Marca., 2011).

Semen kambing berwarna abu-abu hingga kekuningan dan diantara pejantan warna semen bervariasi juga pada pejantan yang sama. Volume ejakulasi rata-rata 1 ml dengan kisaran antara 0,5 – 1,2 ml. Uji kualitas semen dilakukan segera setelah penampungan atau sebelum dilakukan pengenceran (Susilawati, 2013). Sujoko, Setiadi, dan Boediono (2009) menyatakan bahwa pH normal semen kambing berkisar antara 6,4-8,0. Konsistensi semen segar yang dihasilkan adalah kental. Susilawati, (2013) menyatakan bahwa terdapat korelasi antara konsistensi dengan konsentrasi. Konsentrasi spermatozoa pada semen kambing berkisar antara  $2.000-6.000 \times 10^6$  sel/ml semen (Evans *and* Maxwell., 1987 *dalam* Istanty, Salim, Isnaini, dan Susilawati., 2017).

Volume semen kambing Boer dewasa di Indonesia berkisar antara 0,70 – 1,50 ml. Volume ini bervariasi menurut individu, umur, berat badan, pakan dan frekuensi penampungan. Semen yang normal pada umumnya memiliki bau amis khas disertai dengan bau dari hewan tersebut (Susilawati, 2013). Karakteristik spermatozoa segar kambing Boer disajikan pada Tabel 1, berikut:

Tabel 1. Karakteristik semen segar kambing Boer

Keterangan	Jumlah
volume/ejakulat (ml)	0,8±0,3
warna	krem susu
konsistensi	sedang – kental
pH	6,4
konsentrasi (...x10 <sup>6</sup> /ml)	4.125±683
motilitas individu (%)	79,55±1,51
viabilitas (%)	85,29±4,34
abnormalitas (%)	2,53±0,77
integritas membran (%)	77,52±7,35

Sumber: Pamungkas, Batubara, dan Anwar (2014)

### 2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen

Semen hasil penampungan dari ternak segera dilakukan pengamatan untuk mengetahui kualitas semen segar. Hal ini dilakukan untuk mengetahui semen segar layak atau tidak untuk dilakukan proses pengenceran dan penyimpanan dingin ataupun pembekuan. Kualitas semen dapat dilihat dari pH, warna, viabilitas, motilitas dan konsentrasi. Setiap ternak mempunyai kualitas semen yang berbeda-beda tergantung dari umur, kondisi ternak, libido, dan bangsa (Candra, Ihsan, dan Isnaini, 2012 *dalam* Anastasia, dkk., 2015).

Susilawati (2013), menyatakan bahwa volume semen yang diejakulasikan dipengaruhi umur pejantan, kondisi fisik, musim, keterampilan kolektor, dan frekuensi penampungan. Jika penampungan dengan menggunakan metode vagina buatan, tahap *false mounting* digunakan untuk meningkatkan volume semen dan jika sering dilakukan penampungan yaitu lebih dari 3 kali dalam seminggu maka volume semen akan menurun.

Menurut Rahmawati, Susilawati dan Ihsan (2015), menyatakan bahwa variasi bangsa pejantan sapi dan bulan penampungan semen menyebabkan perbedaan volume semen yang dihasilkan, motilitas individu, konsentrasi, total spermatozoa, dan total spermatozoa motil. Umur ternak juga berpengaruh terhadap warna, konsistensi, konsentrasi spermatozoa, motilitas, namun tidak mempengaruhi pH, mortalitas, dan abnormalitas spermatozoa (Dewi, Ondho, dan Kurnianto., 2012).

Semen kambing berwarna abu-abu hingga kekuningan dan diantara pejantan warna bervariasi juga pada pejantan yang sama. Susilawati (2013) menyatakan bahwa semen normal berwarna putih kekuningan atau putih susu. Warna semen putih kekuningan disebabkan oleh sekresi pigmen riboflavin oleh kelenjar vesikularis.

Konsumsi pakan juga mempengaruhi volume semen ternak, dimana proses spermatogenesis berlangsung saat ternak pubertas, pada masa inilah nutrisi pakan yang masuk dalam tubuh digunakan secara optimal untuk pembentukan sel-sel kelamin, termasuk untuk memproduksi spermatozoa. Saat ternak mengalami dewasa tubuh maka sebagian besar nutrisi pakan yang diserap di dalam tubuh digunakan untuk pembentukan sel-sel tubuh (Dewi, dkk., 2012).

## **2.4 Pengenceran Semen**

Penggunaan pengencer merupakan hal penting dalam pengemasan semen dalam bentuk straw (dibekukan) ataupun cair, yang diharapkan mampu mempertahankan kualitas semen. Penggunaan pengencer bukan hanya sekedar untuk memperbanyak volume semen, tetapi peranan utama bahan pengencer adalah mengurangi kepadatan spermatozoa serta



menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai waktu tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku (Rusdin dan Jum'at 2000 *dalam* Ridwan, 2009). Upaya untuk menjaga agar semen tetap terjaga kualitasnya perlu dilakukan pengawetan semen segar dengan cara melakukan pengenceran semen segar. Pengenceran semen dilakukan untuk mengurangi kepadatan spermatozoa dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa selama masa penyimpanan baik pada kondisi penyimpanan suhu dingin ataupun suhu beku, dan memperbanyak volume semen (Widjaya, 2011).

Semen segar yang sudah diperiksa kualitasnya dan sudah dinyatakan bagus, diencerkan dengan suatu pengencer pada suhu  $\pm 35^{\circ}\text{C}$ , ditempatkan di dalam bejana berisi air yang suhunya sama, kemudian suhu diturunkan secara perlahan-lahan sampai  $5^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 45- 60 menit. Penurunan suhu pada saat pengenceran dilakukan secara bertahap bertujuan agar sperma tidak mengalami *cold shock*. Pengaruh dingin yang mendadak merupakan penyebab terjadinya *cold shock*, hal tersebut karena cepatnya proses pemecahan *adenosine triphosphate* (ATP) sebagai akibat kebutuhan energi yang mendadak dan mengakibatkan spermatozoa kehabisan energi (Hardijanto, Susilowati, Hernawati, Sardjito, dan Suprayogi, 2010).

Pengencer harus mengandung nutrisi sebagai sumber energi bagi spermatozoa selama penyimpanan, mempunyai daya preservasi tinggi yaitu dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin, mengandung unsur yang sifat fisik dan kimianya hampir sama dengan semen, tidak bersifat racun bagi spermatozoa dan saluran reproduksi betina, harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, menghambat pertumbuhan mikroba serta bersifat sebagai



penyangga (*buffer*) (Susilawati, 2011). Syarat penting yang harus dimiliki pengencer yang baik yaitu (1) murah, sederhana, praktis dan mempunyai daya preservasi yang tinggi, (2) mengandung unsur-unsur yang hampir sama sifat fisik dan kimiawinya dengan semen, dan (3) dapat mempertahankan dan tidak membatasi daya spermatozoa (Inonie, Baa, dan Saili., 2016).

Semen yang telah dilakukan penampungan perlu segera dilakukan pengenceran. Menurut Hasbi, Sonjaya, dan Gustina (2011), semen yang tidak diencerkan, sulit sekali mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun di simpan dalam suhu yang rendah. Pengenceran perlu dilakukan karena spermatozoa yang senantiasa bergerak aktif, maka cadangan energi di dalam semen yang tidak diencerkan akan cepat habis digunakan. Selain itu semakin meningkatnya kadar asam laktat yang terbentuk makin meningkat derajat keasaman semen yang bersifat racun terhadap spermatozoa.

## **2.5 Pengencer Susu Skim Kuning Telur**

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal setelah lemak/krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim mengandung semua zat makanan dari susu kecuali lemak (kandungan lemak <1%) dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (Anastasia, dkk., 2015). Susu skim merupakan medium isotonik yang mengandung beberapa komponen yang menguntungkan untuk memelihara kelangsungan hidup spermatozoa seperti karbohidrat, lemak dan mineral serta beberapa substansi pelindung untuk proses oksidasi metabolisme spermatozoa. Kuning telur mengandung asam - asam amino, karbohidrat, vitamin, dan mineral untuk kebutuhan hidup spermatozoa. Kuning telur juga mengandung

glukosa, protein, vitamin yang larut dalam air dan lemak serta viskositasnya yang dapat menguntungkan bagi spermatozoa.

Pengencer susu skim telah banyak digunakan dan hasilnya sama baiknya dengan pengencer tris dan sitrat kuning telur. Zat nutrisi yang terkandung dalam susu skim dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi (Sades, Isnaini, dan Wahjuningsih., 2016). Larutan pengencer susu skim kuning telur, terdiri dari susu skim, kuning telur, fruktosa, penicillin dan streptomisin. Susu skim sebelum digunakan terlebih dahulu dilarutkan dengan aquades dengan perbandingan 1 : 9 (Lubis, dkk., 2013).

Widjaya (2011) menyatakan bahwa susu skim kuning telur mengandung zat lipoprotein dan lesitin, sehingga dapat digunakan sebagai pengencer semen yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejut dingin. Penggunaan susu skim sebagai bahan pengencer memiliki keuntungan, yaitu harganya terjangkau, mudah didapat, dan kadar lemak rendah sehingga mudah dalam pengamatan secara visual dalam pengujian kualitas secara mikroskopik karena tidak ada gangguan oleh butir-butir lemak yang jumlahnya terlalu banyak. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa semen kambing yang diencerkan dengan susu skim kuning telur menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa yang lebih baik dari air kelapa kuning telur, namun belum memberikan hasil fertilitas yang baik (Werdhany, 2003 *dalam* Lubis, dkk., 2013).

## 2.6 Penyimpanan Semen

Pengenceran dan penyimpanan semen merupakan usaha mempertahankan fertilitas spermatozoa dalam periode yang lebih lama yakni untuk memperpanjang daya hidup

spermatozoa, motilitas, dan daya fertilitasnya (Ridwan, 2009). Penyimpanan semen bertujuan untuk mengoptimalkan jangka waktu penggunaan semen pejantan unggul dan penyebaran bibit unggul ditempat yang membutuhkan. Semen segar yang telah diencerkan, sebelumnya semen harus dievaluasi secara mikroskopis maupun makroskopis untuk dilihat kualitas dari semen tersebut. Evaluasi atau pengamatan semen perlu dilakukan untuk melihat kualitas dan kuantitas dari semen. Pengamatan yang dilakukan yaitu pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, seperti volume, warna, pH, konsistensi, motilitas, konsentrasi dan morfologi spermatozoa (Anastasia, dkk., 2015). Kualitas semen ini sangat berpengaruh terhadap penerapan teknologi IB pada kambing, baik menggunakan semen beku maupun semen cair yang diperbanyak volumenya sehingga dapat dimanfaatkan untuk melayani beberapa betina dalam kurun waktu yang lebih lama. Penggunaan semen cair merupakan alternatif dalam program IB sebagai pengganti penggunaan semen beku akibat penurunan kualitas spermatozoa setelah pembekuan dan terkendala dalam bahan pengencer yang mahal serta ketersediaan nitrogen cair (Sades, dkk., 2016).

Sokunbi, *et al.* (2015) menyatakan bahwa pada penyimpanan suhu 6 °C mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa, integritas akrosom dan morfologi normal sehingga menjaga fertilitas spermatozoa. Penyimpanan semen pada suhu rendah (umumnya suhu 3-5°C dan -196°C) sering terjadi suatu proses yang disebut cekaman dingin yang dapat merusak membran plasma sel dan berakibat kematian spermatozoa. Usaha untuk mempertahankan fertilitas spermatozoa dapat ditempuh dengan dua cara, yaitu dengan penambahan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik

dan kimiawi spermatozoa dan penyimpanan pada kondisi dan suhu tertentu yang dapat mempertahankan kualitasnya (Rizal, 2006 *dalam* Sades, dkk., 2016).

Manajemen penyimpanan semen setelah pengenceran sangat penting diperhatikan. Kualitas semen selama penyimpanan sebelum dilakukan IB sangat penting diketahui karena dapat memperkirakan sejauh mana daya hidup dan fertilitas spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina. Pengawetan (preservasi) semen dapat dilakukan dengan semen cair yang disimpan pada temperature 5°C. Selama ini penyimpanan semen cair dilakukan dalam suatu tabung dalam jumlah beberapa dosis inseminasi yang disebut sistem *pool*. Pada saat akan digunakan, maka semen harus dihomogenkan dan dapat diambil sesuai volume dan jumlah sel yang diinginkan (Yusuf, Arifiantini, dan Rahmiwati., 2005).

## **2.7 Kelor (*Moringa oleifera*)**

Kelor (*Moringa aloifera* Lam) diyakini berasal dari India dan Arab kemudian menyebar di berbagai wilayah. Tanaman ini di berbagai daerah tropis dimanfaatkan untuk berbagai penggunaan seperti pengobatan tradisional, tanaman pagar disinfektan, pelumas dan kosmetik. Tanaman kelor merupakan perdu dengan ketinggian sampai 10 m, berbatang lunak dan rapuh dengan daun yang sebesar ujung jari berbentuk bulat telur dan tersusun majemuk. Berbunga sepanjang tahun berwarna putih, buah bersisi segitiga dengan panjang sekitar 30 cm, tumbuh subur mulai dari dataran rendah ketinggian 700 m diatas permukaan laut. Pada tahun pertama, kelor sudah bisa menghasilkan biji dalam satu polong bisa diperoleh sekitar biji. Produksi semakin banyak pada

tahun ke-2 dan tahun berikutnya (Wahyuni, Asrikan, Sabana, Sahara, Murtiningsih, dan Putriningrum., 2013).



Gambar 3. Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Sumber: <https://salud.uncomo.com>

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2013) dalam Aminah, dkk (2015) klarifikasi tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angeospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Brassicales
Familia	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk

Tanaman Kelor dikenal sebagai *The Miracle Tree* atau pohon ajaib karena terbukti secara alamiah merupakan sumber gizi berkhasiat obat yang kandungannya di luar kebiasaan kandungan tanaman pada umumnya (Yuliani, dan Dienina., 2015). Kelor diduga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenol, dan saponin (Arora, Onsare, and Kaur., 2013). Akomolafe, Oboh, Akindahunsi, Akinyemi, and Adeyanju (2012) menyatakan bahwa tanaman kelor menunjukkan aktivitas anti-inflamasi, antihipertensi dan anti-ulkus, selain itu juga terkenal karena penggunaannya dalam terapi tradisional sebagai kontrol abortifacient dan infertilitas. Penelitian fitokimia pada kelor mengungkapkan adanya *alkaloidis moringine* dan *moringin* di akarnya, *alkaloid pterygospermine* di bunga, serta asam lemak dan minyak tetap dalam biji.

Daun kelor mengandung metabolit primer seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, vitamin dan asam amino sehingga dapat dimanfaatkan sebagai makanan alternatif pada kasus malnutrisi, selain itu daun kelor juga mengandung metabolit sekunder (Yuliani, dan Dienina., 2015). Daun kelor memiliki kandungan betakaroten melebihi wortel, mengandung protein melebihi kacang polong, mengandung vitamin C lebih banyak dibanding jeruk, kandungan kalsiumnya melebihi susu, mengandung zat besi lebih banyak dari bayam, dan kandungan kaliumnya lebih banyak dari pisang (Syahrin, Kairupan, dan Loho., 2016). Zat aktif yang terkandung dalam daun kelor yang berpotensi sebagai antioksidan adalah berbagai jenis vitamin (A, C, E, K, B1, B2, B3, B<sub>6</sub> flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid (Yuliani, dan Dienina., 2015).

Menurut Adeyemi and Elebiyo (2014) potensi yang terkandung dalam daun kelor diantaranya adalah tinggi

kandungan protein,  $\beta$ -karoten, vitamin C, mineral terutama zat besi dan kalsium, bahkan dalam beberapa literatur dijelaskan kelor mempunyai kadar protein 3 kali dari protein telur, 25 kali zat besi serta 3 kali vitamin C bayam, 12 kali kalsium serta 2 kali protein susu. Memiliki sumber serat terbaik, kandungan betakarotene 4 kali lipat lebih besar dari wortel juga terdapat bahan minyak omega 3 dan klorofil. Daun kelor mengandung zat besi lebih tinggi daripada sayuran lainnya yaitu sebesar 17,2 mg/100 g (Yameogo, Bengaly, Savadogo, Nikièma, and Traoré., 2011). Kandungan nilai gizi daun kelor segar dan daun kering disajikan pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Kandungan nilai gizi kelor kering (g/100g)

Komponen gizi	Daun	Bunga	Polong	Biji
Protein	22,75	24,53	12,36	32,19
Lemak	4,65	6,01	0,94	32,4
Mineral	13,02	6,21	13,4	5,58
Serat	7,92	5,07	22,57	15,87
Karbohidrat	51,66	58,08	50,73	15,96

Sumber: Melo, Vargas, Quirino, and Calvo (2013)

Daun kelor juga mengandung berbagai macam asam amino, antara lain asam amino yang berbentuk asam aspartat, asam glutamat, alanin, valin, leusin, isoleusin, histidin, lisin, arginin, venilalanin, triptopan, sistein dan methionin (Simbolan, *et al.*, 2007 dalam Aminah, dkk., 2015). Kandungan asam amino daun kelor disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan asam amino esensial per 100 g daun kelor

Komponen asam amino	Daun segar (mg)	Daun kering (mg)
Arginine	406,6	1325
Histidine	149,8	613
Isoleusine	299,6	825
Leusine	492,2	1950
Lysine	342,4	1325
Methionine	117,7	350
Phenylalanine	310,3	1388
Threonine	117,7	1188
Tryptophan	107,0	425
Valine	374,5	1063

Sumber: Simbolan, *et al* (2007) dalam Aminah dkk (2015)

Telah diidentifikasi bahwa daun kelor mengandung antimikrobia (Das, *et al.*, 2012) dan antioksidan seperti tannin, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin, antarquinon, alkaloid (Kasolo, Bimeya, Ojok, Ochieng, and Ogwal-okeng., 2010), protein,  $\beta$ -karoten, vitamin C, mineral terutama zat besi dan kalsium (Diantoro, Rohman., Budiarti, dan Palupi., 2015), asam askorbat, flavonoid, fenolik, dan karetenoid (Moyo, Julius, and Voster., 2012). Daun kelor mengandung fenol dalam jumlah yang banyak yang dikenal sebagai penangkal senyawa radikal bebas. Kandungan fenol dalam daun kelor segar sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6% (Foidl, *et al.*, 2001).

Senyawa fenolik adalah kelompok penting dari metabolit sekunder, yang disintesis oleh tanaman karena adaptasi tanaman untuk kondisi stres biotik dan abiotik seperti infeksi, tekanan air, dan stres dingin. Beberapa tahun terakhir, senyawa fenolik telah menarik para peneliti karena kapasitas



antioksidannya dapat melindungi tubuh manusia dari radikal bebas, yang terbentuk karena metabolisme alami yang normal dalam sel aerobik. Aktivitas antiradikal flavonoid dan fenolik pada dasarnya pada hubungan struktural antara berbagai bagian struktur kimianya. Polifenolik adalah komponen umum yang sebagian besar ada di makanan dan minuman yang berasal dari tumbuhan. Fenolik dianggap berkontribusi terhadap pencegahan berbagai penyakit degeneratif. Asumsi ini awalnya berasal dari studi *in vitro*, yang menunjukkan sifat antioksidan dari beberapa polifenol dan kemampuannya untuk mengatur aktivitas berbagai enzim. Flavonoid merupakan antioksidan yang lebih kuat daripada vitamin C dan E (Akomolafe, *et. al.*, 2012).

Hasil penelitian Shah, *et al* (2015) menunjukan bahwa ekstrak daun kelor atau yang dikenal dengan istilah *Moringa Leaf Extract* (MLE) dapat mempertahankan warna daging segar dalam kemasakan MAP selama 12 hari penyimpanan pada suhu dingin. Hal ini disebabkan oleh karena daun kelor sebagai sumber senyawa phenolik yang baik yang mampu mencegah terjadinya oksidasi lemak pada daging segar selama penyimpanan. Menurut Muthukumar, *et al* (2012) komponen bioaktif yang cukup tinggi, seperti asam askorbat, karotenoid dan senyawa fenolik sangat berperan dalam memperpanjang masa simpan produk.

Penemuan terbaru adalah fungsi daun kelor sebagai farmakologis, yaitu antimikroba, antijamur, antihipertensi, antihyperglisemik, antitumor, antikanker, anti-inflamasi (Toma and Deyno, 2014). Ekstrak daun kelor juga dapat berfungsi sebagai antidiare (*antidiarraheal activity*) dengan dosis oral 300 mg/kg berat badan (Misra, Srivastava, and Srivastava., 2014). Satu-satunya kelemahan dari daun kelor

adalah adanya faktor flatulensi yang dapat mengakibatkan perut kembung yang disebabkan oleh kandungan rafinosa, sukrosa, dan stakiosa (Gupta, Barat, Wagle, and Chawla., 1989 dalam Aminah, dkk., 2015).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa bagian akar, bunga, kulit kayu, batang, dan biji kelor memiliki sifat antimikroba (Anwar and Rashid, 2007). Ekstrak daun, biji dan akar kelor telah dipelajari secara ekstensif berpotensi dalam penyembuhan luka, anti-tumor, anti-kesuburan, aktivitas hipotensi dan analgesik, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulcer, antispasmodik, diuretik, hypocholesterolaemic, antijamur, antibakteri, dan antioksidan. Pasta daun kelor digunakan sebagai aplikasi eksternal untuk luka kulit. Daun kelor merupakan sumber antioksidan alami yang baik dan sangat sedikit metode yang telah dilaporkan untuk estimasi berbagai kandungan yang ada pada tanaman Kelor (Rajanandh and Kavitha, 2010). Daun Kelor juga dapat mencegah stres oksidatif (Oparinde and Atiba, 2014). Pemberian ekstrak daun kelor dapat menjadi pengganti yang baik untuk komponen antibiotik dari semen sapi karena dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa, integritas akrosom dan morfologi normal sehingga menjaga fertilitas spermatozoa pada simpan suhu 6 °C (Sokunbi, *et al.*, 2015).

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan dan Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang berada di Desa Sumber Sekar, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Pembuatan Ekstrak Daun Kelor dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Penelitian berlangsung mulai 9 November 2017 hingga 10 Maret 2018 yang terdiri pra-penelitian dan penelitian utama.

#### **3.2 Materi Penelitian**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 ekor kambing Boer dengan  $PI_6$  (berumur 2,5-3 tahun) dan memiliki bobot badan  $42,93 \pm 5,10$  kg yang berasal dari Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Semen kambing Boer ditampung sebanyak 2 kali per minggu dengan menggunakan vagina buatan. Persyaratan semen segar yang digunakan yaitu semen yang mempunyai motilitas individu 70 - 80% dan motilitas massa 2+ (++) .

Bahan pengencer yang digunakan adalah larutan susu skim dan kuning telur (SSKT) yang telah diformulasikan. Susu skim yang digunakan yaitu “Tropicana Slim” yang didapatkan dari swalayan di Malang dan kuning telur segar ayam ras petelur dengan umur telur kurang dari tiga hari yang berasal dari peternak ayam di Malang. Bahan ekstrak adalah daun kelor muda yang didapat dari daerah Selorejo, Dau, Malang.

Bahan pendukung lain adalah pewarna eosin-negrosin (berasal dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya), larutan NaCl 3%, dan larutan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST) yang terbuat dari 0,31 g natrium sitrat dan 0,569 g D-fruktosa yang dilarutkan dalam 50 ml aquabidest (berasal dari Laboratorium Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya), aquadest dan aquabidest (No. Reg: GKL7209321243A1).

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode percobaan laboratorium (*experimental laboratory*) dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian terdiri dari 5 perlakuan suplementasi ekstrak daun kelor dalam pengencer susu skim kuning telur. Masing-masing perlakuan diamati pada waktu jam ke-0, 2, 4, 24, 48, dan 72 simpan dingin dengan ulangan sebanyak 10 kali. Proporsi suplementasi ekstrak daun kelor yang digunakan adalah sebagai berikut:

P0 : Susu Skim Kuning Telur (SSKT) 100%

P1 : Susu Skim Kuning Telur (SSKT) 100% + Ekstrak Daun Kelor (EDK) 1%

P2 : Susu Skim Kuning Telur (SSKT) 100% + Ekstrak Daun Kelor (EDK) 3%

P3 : Susu Skim Kuning Telur (SSKT) 100% + Ekstrak Daun Kelor (EDK) 5%

P4 : Susu Skim Kuning Telur (SSKT) 100% + Ekstrak Daun Kelor (EDK) 7%

### 3.3.2 Prosedur Penelitian

#### 3.3.2.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

- Bahan: daun kelor muda tanpa ranting sebanyak 1 kg, serta pelarut etanol 70%.
- Alat: blender, timbangan, nampan, *dish meal*, kertas whatman 42, *vacum rotary evaporator*, *automatic shaker*, dan gelas ukur.
- Pembuatan ekstrak daun kelor dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, dengan prosedur mengadopsi dari Kumala, Masfufatun, dan Devi (2016), sebagai berikut:
  1. Disiapkan alat dan bahan.
  2. Daun kelor ditimbang sebanyak 1 kg dicuci, dan dikeringkan selama 2-4 hari (oven pada suhu 40 °C) kemudian diblender hingga hancur.
  3. Daun kelor yang sudah hancur dimaserasi dengan menggunakan larutan etanol 70% selama  $\pm 24$  jam dan disaring.
  4. Residu dimaserasi lagi sampai filtrat jernih.
  5. Filtrat atau maserat dikumpulkan jadi satu, dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* (suhu 30-40°C, tekanan 75mmHg) selama  $\pm 1$  jam hingga diperoleh ekstrak kental dalam bentuk pasta.

### 3.3.2.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Kelor (EDK)

- Bahan: ekstrak daun kelor berbentuk pasta dan aquabidest
- Alat: timbangan analitik, erlenmeyer 100 ml, *timer digital*, *magnetic stirrer*, *sentrifugator*, pinset, tabung reaksi, appendorf 1 ml dan *freezer*.
- Pembuatan larutan ekstrak daun kelor ini mengadopsi Sokunbi *et al*, (2015) yang diolah, dan didapatkan komposisi serta prosedur sebagai berikut:
  1. Disiapkan alat dan bahan
  2. Ditimbang EDK pasta 0,1 g dan diukur volume aquabidest 10 ml dalam erlenmeyer
  3. Dimasukkan EDK pasta 0,1 g dalam aquabidest 10 ml
  4. Dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan skala 400 rpm, selama 15 menit
  5. Dimasukkan dalam tabung reaksi
  6. Disentrifugasi dengan kecepatan 1.500rpm selama 2x30 menit
  7. Diambil supernatant dan dibuang endapan
  8. Larutan ekstrak daun kelor siap digunakan dalam penelitian atau dapat juga dituang dalam appendorf 1 ml untuk dibekukan dalam *freezer*

### 3.3.2.3 Pembuatan Larutan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST)

- Bahan: Na Sitrat 0,31 g, D-Fruktosa 0,569 g, dan aquabidest 50 ml
- Alat: timbangan analitik, erlenmeyer 100 ml, *timer digital*, *magnetic stirrer*, pinset, spatula, gelas ukur, dan *refrigerator*.
- Pembuatan larutan HOST dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya dengan prosedur yang diadopsi dari Purwoistri, Susilawati, dan Rahayu (2013), sebagai berikut:
  1. Disiapkan alat dan bahan
  2. Ditimbang dan ditakar semua bahan
  3. Dimasukkan bahan-bahan ke dalam Erlenmeyer
  4. Dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 150rpm selama 30 menit
  5. Disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 4-5 °C

### 3.3.2.4 Pembuatan Pengencer Susu Skim Kuning Telur (SSKT)

- Bahan pengencer susu skim kuning telur

Tabel 4. Komposisi pengencer susu skim kuning telur

Bahan Penyusun	Jumlah	Volume Pengencer 100 ml
Aquabidest	80 %	80 ml
Susu skim bubuk	10 %	10 g
Fruktosa	1 %	1 ml
Penicillin	1.000 IU/ml	100.000 IU/100ml
Streptomycin	0,1 %	0,1 g
Kuning telur	5 %	5 ml

Sumber: Susilawati, 2013 (Diolah)

- Alat: erlenmeyer (ukuran 1000 ml, 250 ml, 100 ml dan 50 ml), gelas ukur (5 ml dan 10 ml), *beaker glass*, tabung reaksi, gunting, kertas tissue, *timer digital*, panci, spatula, timbangan analitik, spuit, thermometer, refrigerator, aluminium foil, dan kompor elektrik.
- Prosedur pembuatan pengencer susu skim kuning telur 100 ml (Susilawati, 2013):
  1. Disiapkan dan ditakar semua bahan
  2. Dimasukan aquabidest sebanyak 80 ml ke dalam Erlenmeyer
  3. Dikondisikan aquabidest pada suhu 37<sup>0</sup> C
  4. Dimasukan 10 g susu skim dan 1 g fruktosa ke dalam Erlenmeyer.
  5. Dimasukan magnetic ke dalam erlenmeyer
  6. Di magnetic stirer dengan skala 4, selama 15 menit



7. Dipanaskan atau di *steam* (50-60 °C) selama  $\pm$  10 menit, atau sampai mengembun (sterilisasi untuk menghilangkan atau membunuh mikroorganisme dan sifat enzim)
8. Diangkat Erlenmeyer dan didinginkan sampai suhu 37<sup>0</sup> C
9. Dimasukan penicillin 100.000 IU/100ml (60 mg/100ml = 0,06 g/100ml), streptomycin (0,1 g) dan kuning telur (5 ml)
10. Distirer selama 10 menit
11. Diendapkan dalam refrigerator selama 3 hari
12. Diambil supernatan

### 3.3.2.5 Pembuatan Pengencer Susu Skim Kuning Telur (SSKT) dengan Suplementasi Ekstrak Daun Kelor (EDK)

- Pengencer P1



Gambar 4. Prosedur Pembuatan Pengencer P1

- Pengencer P2



Gambar 5. Prosedur Pembuatan Pengencer P2

- Pengencer P3



Gambar 6. Prosedur Pembuatan Pengencer P3

- Pengencer P4



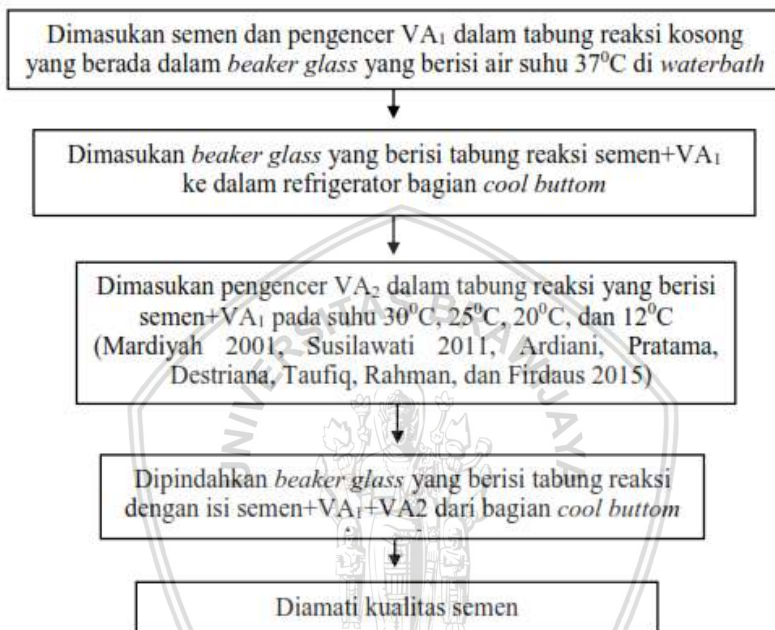
Gambar 7. Prosedur Pembuatan Pengencer P4

### 3.3.2.6 Penampungan Semen Kambing Boer

Prosedur penampungan semen kambing Boer dilakukan dengan cara memasukan betina pemancing (*teaser*) ke kandang jepit. Penampungan semen kambing ini dilakukan oleh dua (2) orang petugas, dimana petugas 1 meng-*handle* pejantan dan petugas 2 menampung semen kambing. Petugas penampung berada di sebelah kanan kambing dengan memegang vagina buatan menggunakan tangan kanan. Pejantan didekatkan pada betina pemancing hingga melakukan *flehming* dan menaiki betina (*mounting*). *False mounting* dilakukan sebanyak dua (2) sampai tiga (3) kali yang bertujuan untuk meningkatkan libido pejantan. Penampungan semen dilakukan dengan cara tangan kiri petugas memegang preputium penis kambing dan mengarahkan penis ke vagina buatan yang dipegang dengan tangan kanan, sehingga ejakulasi terjadi di dalam vagina buatan.

### 3.3.2.7 Prosedur Pengenceran Semen

Prosedur pengenceran semen dengan pengencer susu skim kuning telur adalah sebagai berikut:



Gambar 8. Prosedur Pengenceran Semen

### 3.3.2.8 Evaluasi Semen

Evaluasi dilakukan untuk mengetahui kualitas semen yang dihasilkan. Evaluasi tersebut meliputi pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis.

#### a. Pengamatan Secara Makroskopis

##### 1. Volume

Volume semen diukur dengan melihat garis batas semen yang sejajar dengan skala pada *collection tube* (Susilawati, 2013).

## 2. pH

pH dapat diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar dengan menggunakan ose dan diletakkan pada pH meter (Susilawati, 2013).

## 3. Warna

Warna semen dilihat langsung dari *collection tube*, semen normal berwarna putih kekuningan atau putih susu (Susilawati, 2013).

## 4. Konsistensi

Konsistensi spermatozoa diperiksa dengan menggoyang-goyangkan *collection tube* yang berisi semen. Konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Penilaiannya bisa encer ( $<1000 \times 10^6$  /ml), sedang ( $1000 \times 10^6 - 1500 \times 10^6$  /ml) dan kental ( $>1500 \times 10^6$  /ml) (Susilawati, 2013).

## 5. Bau

Bau semen dapat diamati langsung dengan menggunakan indra pembau (hidung) pada tabung penampung semen (Husin, Suteky, dan Kususiya, 2007).

### b. Pengamatan Secara Mikroskopis

#### 1. Motilitas Massa Spermatozoa

Pengamatan motilitas massa dilakukan dengan cara meneteskan semen diatas *object glass* tanpa ditutup *cover glass*, kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 100 kali (Susilawati, 2013).

Kriteria penilaian motilitas massa spermatozoa, yaitu sebagai berikut:

- a. +++ (sangat baik), bila terlihat gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif seperti gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat
- b. ++ (baik), bila terlihat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban
- c. + (cukup), bila tidak terlihat gelombang dan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif
- d. 0 / nol (buruk), bila hanya ada sedikit gerakan-gerakan individual

## 2. Konsentrasi Spermatozoa

Penentuan konsentrasi spermatozoa diukur dengan menggunakan *haemocytometer thoma* dengan cara kerja sebagai berikut: dihisap semen dengan pipet eritrosit sampai skala 0,5, kemudian NaCl 3% sampai skala 10,1 pada pipet. Pipet eritrosit digoyang-goyangkan membentuk angka 8 sampai homogen dan beberapa tetes dibuang. Satu tetes ditempatkan pada kamar hitung *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*, diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali. Spermatozoa dihitung pada 5 kotak besar yaitu sudut kanan dan kiri atas, sudut kanan dan kiri bawah, serta ditengah (Susilawati, 2013).

### 3. Motilitas Individu Spermatozoa

Pengamatan motilitas individu dilakukan untuk melihat pergerakan spermatozoa yang bergerak progresif dengan cara meneteskan semen diatas objek glass, ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Susilawati, 2013).

### 4. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas atau persentase spermatozoa yang hidup diamati dengan meneteskan semen pada ujung *object glass* dan ditambahkan satu tetes pewarna eosin-negrosin di dekat semen, kemudian keduanya dicampur. Campuran tersebut kemudian ditutup dengan *object glass* lain pada ujungnya yang membentuk sudut 45°C dan ditarik ke arah ujung yang lain (diulas). Hasil ulasan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali, spermatozoa yang menyerap warna berarti mati dan yang tidak menyerap warana berarti hidup (Susilawati, 2013).

### 5. Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali bersamaan dengan menghitung viabilitas. Dua ratus spermatozoa dievaluasi ada tidaknya abnormalitas morfologi yang spesifik (Susilawati, 2013). Abnormalitas spermatozoa dibedakan menjadi 2 macam, yaitu:

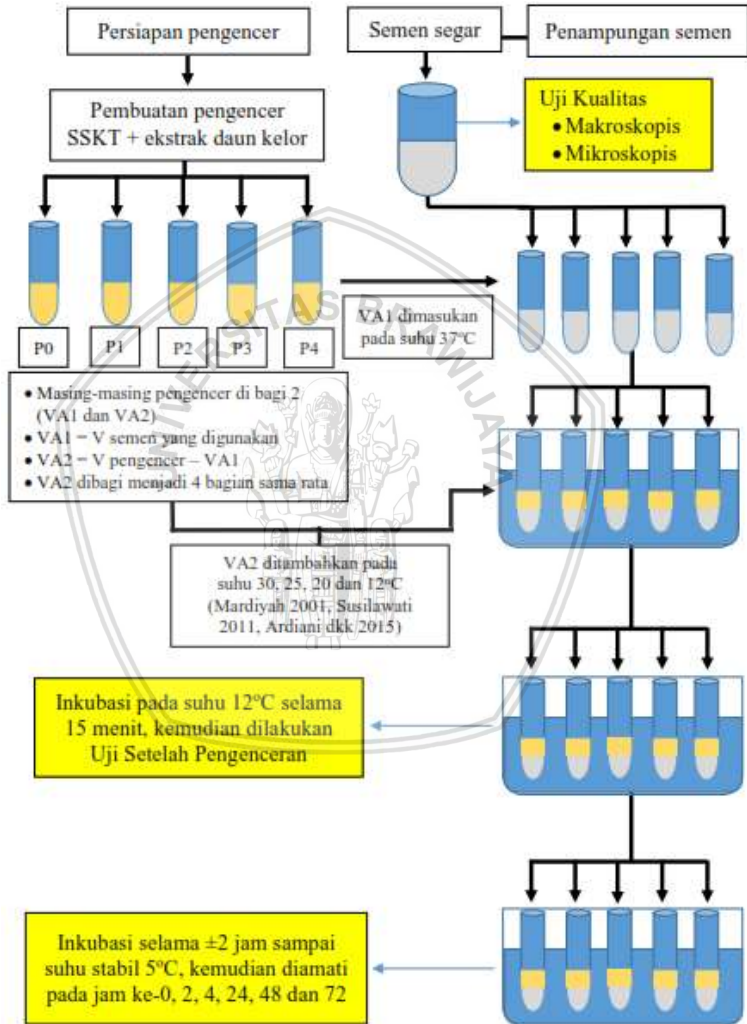
- a. Abnormalitas primer: terdiri dari kepala besar (*macrocephalic*), kepala kecil (*microcephalic*), kepala dua (*double cephalic*), kepala tak berkembang (*developed cephalic*), kepala bulat (*round cephalic*), kepala pipih (*narrow cephalic*), leher zigzag (*kink midpiece*), leher bercabang dua (*double midpiece*), leher patah (*broken midpiece*), ekor bengkok (*bent tail*) dan ekor melingkar (*coil tail*).
  - b. Abnormalitas sekunder: terdiri dari ekor terputus, kepala saja, dan *cytoplasmic droplet*.
6. Integritas Membran Spermatozoa

Pemeriksaan integritas membran plasma spermatozoa diuji dengan menggunakan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST). Urutan kerja HOST diaplikasikan berdasarkan Susilawati (2013) sebagai berikut. Sebanyak 0,1 ml semen dimasukkan ke dalam 1 ml larutan HOST, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah inkubasi, sampel semen ditetaskan pada *object glass* dan dibuat preparat ulas tipis dan dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali. Spermatozoa dengan membran normal (integritas membran baik) ditandai dengan ekornya melingkar pada bagian ujung, sedangkan spermatozoa dengan membran tidak normal (integritas membran buruk) ditandai dengan ekor lurus.



### 3.3.3 Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional penelitian ini secara ringkas dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Kerangka Operasional Penelitian

### 3.4 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamatai dalam penelitian ini adalah:

#### 1. Motilitas Individu Spermatozoa

Perhitungan motilitas individu yaitu sebagai berikut:

- 90% pergerakan sangat aktif atau cepat, gelombang besar
- 70-85% bergerak aktif/cepat, ada gerakan massa yang cepat
- 40-60% bergerak agak aktif/agak cepat, terlihat gelombang tipis dan jarang serta gerakan massa yang lambat
- 20-30% bergerak kurang aktif, tidak terlihat gelombang, hanya gerakan individual spermatozoa
- 10% hanya gerakan individual spermatozoa (sedikit sekali gerakan individual spermatozoa atau tidak ada gerakan sama sekali)

$$2. \text{ Viabilitas Spermatozoa} = \frac{\Sigma \text{ Spermatozoa Hidup}}{\Sigma \text{ Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

$$3. \text{ Abnormalitas} = \frac{\Sigma \text{ Spermatozoa Abnormal}}{\Sigma \text{ Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

$$4. \text{ Integritas Membran} = \frac{\Sigma \text{ Spermatozoa ekor melingkar}}{\Sigma \text{ Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### 3.5 Analisis Data

Model matematis Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = nilai pengamatan pada perlakuan ke 1-5 ulangan ke 1-10

$\mu$  = rata-rata populasi respon hasil pengamatan

$\alpha_i$  = pengaruh perlakuan ke 1-5

$\varepsilon_{ij}$  = galat percobaan pada perlakuan ke 1-5 ulangan ke 1-10

Hasil pengamatan kualitas semen diuji menggunakan Analisis Ragam dengan Tabel 5.

Tabel 5. Tabel Analisis Ragam

SK	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>0.05</sub>	F <sub>0.01</sub>
<b>Perlakuan</b>	t-1	JK <sub>Perl.</sub>	JK <sub>Perl.</sub> / (t-1)	KT <sub>Perl.</sub> / KT <sub>Galat</sub>		
<b>Galat</b>	t(r-1)	JK <sub>Galat</sub>	JK <sub>Galat</sub> / t(r-1)			
<b>Total</b>	tr-1					

Keterangan:

SK = Sumber Keragaman

db = Derajat bebas

JK = Jumlah Kuadrat

KT = Kuadrat Tengah

t = Perlakuan

r = Ulangan

Apabila terdapat perbedaan nyata atau sangat nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD), dengan rumus:

$$SE = \sqrt{(KT \text{ Galat} / r)}$$

Tabel 6. Tabel Uji Jarak Berganda Duncan Taraf 1%

<b>p</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
R (p, v, α) = R (5, 45, 0,01)	3,805	3,967	4,077	4,158
<b>UJBD 1% = R(5, 45, 0,01)xSE</b>				

Keterangan:

SE = *Standart Error*

R = Ulangan

P = Perlakuan

R = Nilai Jarak

V = db galat

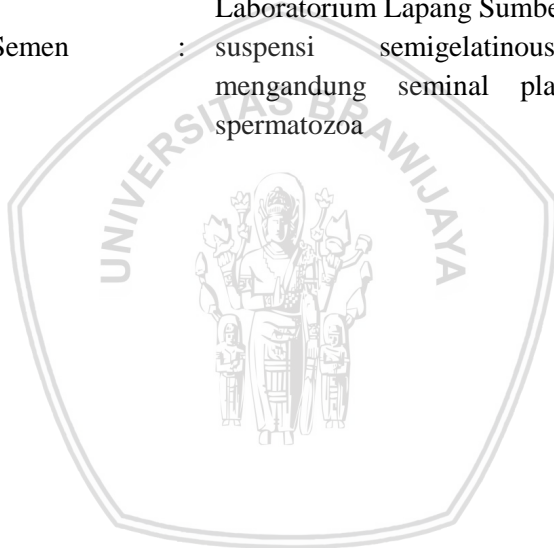
A = Taraf nyata

### 3.6 Batasan Istilah

Batasan istilah dalam penelitian ini adalah:

- Ekstrak : daun kelor muda umur 3-5 minggu yang diekstraksi di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya
- False mounting* : pemancingan pejantan menaiki betina tetapi tidak sampai ejakulasi, dilakukan sebanyak 2-3 kali

- c. Integritas Membran : keutuhan membran plasma spermatozoa yang diuji menggunakan larutan *Hypoosmotic Swelling Test*
- d. Kambing Boer : kambing tipe pedaging dengan produktivitas dan daya adaptasi baik, dengan ciri-ciri warna tubuh putih dengan warna cokelat merah dibagian leher-kepala yang didapatkan dari Laboratorium Lapang Sumber Sekar
- e. Semen : suspensi semigelatinous yang mengandung seminal plasma dan spermatozoa



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Evaluasi Kualitas Semen Segar Kambing Boer

Semen segar kambing Boer dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis sesaat setelah dilakukan penampungan. Uji kualitas semen segar diperlukan untuk mengetahui dan menganalisa kualitas semen segar sesuai dengan persyaratan atau tidak, untuk dilakukan proses pengenceran. Uji kualitas semen segar terbagi menjadi uji makroskopis yang meliputi uji warna, bau, volume, pH, dan konsistensi, serta uji mikroskopis yang meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, integritas membran dan konsentrasi. Hasil pemeriksaan uji kualitas semen segar selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil evaluasi semen segar kambing Boer

	Variabel	Rata-rata $\pm$ SD
Uji Makroskopis	Volume (ml/ejakulat)	1,14 $\pm$ 0,27
	Warna	putih susu
	Bau	khas semen kambing
	pH	7,00 $\pm$ 0,00
	Konsistensi	Sedang - Kental
Uji Mikroskopis	Motilitas Massa	2+ (++)
	Konsentrasi (juta/ml)	3640,00 $\pm$ 819,27
	Motilitas Individu (%)	77,00 $\pm$ 4,47
	Viabilitas (%)	80,04 $\pm$ 3,62
	Abnormalitas (%)	0,89 $\pm$ 0,32
	Integritas Membran (%)	83,13 $\pm$ 3,19

Hasil evaluasi semen segar pada Tabel 7 di atas, diketahui bahwa sampel yang digunakan untuk penelitian termasuk dalam kategori normal. Rata-rata volume kambing Boer yang digunakan pada penelitian ini adalah  $1,14 \pm 0,15$  ml/ejakulat. Hasil ini relatif sama dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa volume kambing Boer berkisar antara 0,9 – 1,2 ml (Lubis dkk., 2013),  $0,8 \pm 0,2$  ml (Munazaroh, Wahjuningsih dan Ciptadi., 2013),  $1,02 \pm 0,29$  ml (Audia, Salim, Isnaini, dan Susilawati., 2017),  $1,05 \pm 0,15$  ml (Lubis, dkk., 2013),  $0,94 \pm 0,26$  ml (Istanty dkk., 2017). Susilawati (2013) menyatakan bahwa jika ternak sering dilakukan penampungan yaitu lebih dari 3 kali dalam seminggu maka volume semen akan menurun. Volume semen juga dipengaruhi oleh perbedaan individu pejantan, bahkan pejantan yang sama akan menghasilkan volume semen yang berbeda ketika dilakukan penampungan.

Warna semen segar yang didapatkan selama penelitian adalah putih susu dengan bau khas semen kambing Boer. Kondisi ini menunjukkan bahwa semen segar tersebut dalam kondisi baik dan normal. Menurut Ax *et al* (2008), warna semen kambing pada umumnya adalah putih krem dengan bau khas semen. Susilawati (2013) menyatakan bahwa semen normal berwarna putih kekuningan atau putih susu. Semen normal memiliki bau amis khas semen disertai bau dari ternak pejantan (Agustian, Ihsan, dan Isnaini., 2014).

Konsistensi semen segar yang didapatkan selama penelitian yaitu sedang – kental dengan pH  $7,00 \pm 0,00$ . Hasil konsistensi ini sama dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa konsistensi semen kambing Boer yaitu kental (Istanty dkk., 2017). Menurut Susilawati (2013) konsistensi berkorelasi positif dengan konsentrasi spermatozoa

dengan penilaiannya bisa encer, sedang dan pekat. Sedangkan pH semen segar yang didapatkan normal yaitu sekitar  $6,53 \pm 0,15$  (Lubis dkk., 2013),  $7,07 \pm 0,10$  (Audia dkk., 2017), dan  $7,00 \pm 0,00$  (Ihsan, 2013).

Uji mikroskopis semen segar kambing Boer selama penelitian menunjukkan bahwa motilitas massa sebesar ++. Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Agustian dkk (2014) yang menyebutkan bahwa hasil motilitas massa semen segar yaitu ++++. Hal tersebut masih dikatakan baik dan normal, karena motilitas massa semen kambing Boer yang dapat dilanjutkan untuk proses pengenceran dan pembekuan berkisar ++ sampai +++ (Rosmaidar, Dasrul, dan Lubis, 2013), dengan ++ (baik) dan +++ (sangat baik) (Susilawati, 2013).

Konsentrasi spermatozoa atau kandungan spermatozoa dalam setiap mili liter semen merupakan salah satu parameter kualitas semen yang sangat berguna untuk menentukan jumlah betina yang dapat diinseminasi menggunakan semen tersebut. Konsentrasi semen segar kambing Boer selama penelitian yaitu sebesar  $3640,00 \pm 819,27$  juta/ml. Hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Agustian dkk (2014) dan Audia dkk (2017) secara berturut-turut yaitu  $4190,00 \pm 1590,31$  juta/ml dan  $5293,30 \pm 188,92$  juta/ml, namun relatif lebih tinggi dibandingkan dengan Lubis dkk (2013) dan Munazaroh dkk (2013) secara berturut-turut yaitu  $2170,00 \pm 0,08$  juta/ml dan  $2630,00 \pm 115,33$  juta/ml. Hasil sampel penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi kambing tersebut cukup baik dan berada dalam kisaran normal. Menurut Munazaroh dkk (2013) semen kambing yang mempunyai kualitas baik yaitu memiliki konsentrasi sekitar 2500 – 5000 juta/ml.



Pengamatan motilitas individu dilakukan untuk melihat pergerakan spermatozoa yang bergerak progresif ke depan. Rata-rata persentase motilitas individu semen segar penelitian sebesar  $77,00 \pm 4,47\%$ . Hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan Agustian dkk (2014) yaitu  $80,00 \pm 0,00\%$  dan  $87,5 \pm 0,03\%$  (Istanty dkk., 2017), tetapi relatif sama dengan Lubis dkk (2013) yaitu  $76,67 \pm 5,77\%$ . Menurut Elhammali, Alqurashi, Ibrahim, and Elsheikh (2013), motilitas individu semen segar yang baik dan dapat dilanjutkan pembekuan yaitu berkisar antara 65% sampai 85%. Besarnya motilitas individu semen segar akan memberikan korelasi positif dengan fertilisasi pada ternak, karena spermatozoa mampu bergerak dan berenang menuju sel telur. Suyadi, Rachmawati, dan Iswanto (2012) menyatakan bahwa semen yang memiliki nilai motilitas individu tinggi akan memberikan peluang fertilisasi yang lebih besar dibandingkan dengan semen motilitas rendah.

Rata-rata persentase daya hidup mati (viabilitas) semen segar kambing Boer dalam penelitian ini yaitu  $80,04 \pm 3,62\%$ . Angka persentase viabilitas semen segar ini termasuk dalam kategori yang baik. Viabilitas semen segar dalam penelitian ini relatif sama dengan Audia dkk (2017) dan Istanty dkk (2017) yang berturut-turut yaitu  $81,94 \pm 4,77\%$  dan  $82,55 \pm 6,72\%$ . Menurut Inonie dkk (2016) nilai persentase spermatozoa hidup berhubungan erat dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa. Jika nilai persentase spermatozoa hidup tinggi maka kemampuan fertilitas akan tinggi.

Persentase abnormalitas spermatozoa semen segar kambing Boer selama penelitian diperoleh raataan sebesar  $0,89 \pm 0,32\%$ . Nilai persentase abnormalitas ini jauh lebih baik dibandingkan dengan penelitian yang sebelumnya. Lubis dkk (2013) melaporkan bahwa abnormalitas semen segar kambing

Boer sebesar  $6,38 \pm 1,96\%$ , Elhammali *et al* (2013) sebesar  $5,70 \pm 0,71\%$ , Agustian dkk (2014) sebesar  $3,57 \pm 0,55\%$ , dan Audia dkk (2017) sebesar  $1,81 \pm 0,96\%$ .

Rata-rata persentase integritas membran semen segar kambing Boer selama penelitian yaitu sebesar  $83,13 \pm 3,19\%$ . Hasil integritas membran semen segar ini lebih tinggi dibandingkan Pamungkas dkk (2014) yaitu  $77,52 \pm 7,35\%$  dan relatif sama dengan hasil penelitian Utama, Setiadi, Situmorang, Adiati, Budiarsana, Kostaman, Maulana, Mulyawan, dan Sukmana (2000) yaitu sebesar  $83,26 \pm 3,25\%$ . Membran plasma utuh spermatozoa memiliki korelasi positif dengan motilitas spermatozoa, dimana semakin baik membran plasma spermatozoa maka akan menyebabkan pergerakan spermatozoa menjadi semakin aktif.

#### **4.2 Motilitas Individu Spermatozoa Selama Simpan Dingin**

Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas semen yang diencerkan dan juga dapat mempengaruhi daya fertilitas spermatozoa. Motilitas individu spermatozoa sesudah proses pendinginan selalu digunakan sebagai pegangan yang termudah dalam penilaian semen yang digunakan untuk inseminasi buatan dengan semen cair. Kecepatan gerakan progresif spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan. Persentase motilitas individu diamati dari jam ke-0, 2, 4, 24, 48 dan 72 pada saat semen yang diencerkan konstan pada suhu  $4 - 5^{\circ}\text{C}$ . Rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa kambing Boer selama simpan dingin dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rataan persentase motilitas individu spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin

Pengamatan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	60,50±4,38 <sup>a</sup>	64,00±3,94 <sup>ab</sup>	68,00±5,87 <sup>b</sup>	71,50±4,12 <sup>b</sup>	70,00±5,27 <sup>b</sup>
Jam ke-2	57,50±4,25 <sup>a</sup>	61,50±3,37 <sup>ab</sup>	65,00±4,71 <sup>b</sup>	69,00±3,16 <sup>b</sup>	67,50±4,86 <sup>b</sup>
Jam ke-4	56,50±3,37 <sup>a</sup>	58,50±4,12 <sup>ab</sup>	63,00±4,22 <sup>b</sup>	65,50±2,84 <sup>b</sup>	64,50±3,69 <sup>b</sup>
Jam ke-24	49,50±2,84 <sup>a</sup>	51,00±3,94 <sup>ab</sup>	55,00±4,08 <sup>b</sup>	59,50±3,69 <sup>b</sup>	58,50±4,74 <sup>b</sup>
Jam ke-48	44,50±5,99 <sup>a</sup>	45,50±2,83 <sup>ab</sup>	48,50±4,12 <sup>ab</sup>	52,50±4,25 <sup>b</sup>	50,50±4,97 <sup>b</sup>
Jam ke-72	31,50±4,74 <sup>a</sup>	35,00±4,08 <sup>ab</sup>	37,00±5,37 <sup>b</sup>	42,50±4,25 <sup>b</sup>	38,00±4,22 <sup>b</sup>

Keterangan: Notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan ( $P < 0,01$ ).

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat bahwa rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa kambing Boer selama proses pendinginan dalam berbagai pengencer mengalami penurunan. Persentase motilitas spermatozoa berbanding terbalik dengan lama waktu penyimpanan dingin, dimana semakin lama waktu pendinginan maka semakin rendah persentase motilitas individu spermatozoa yang diperoleh. Kondisi ini diduga spermatozoa mengalami proses *cold shock* akibat pendinginan dan spermatozoa membutuhkan waktu adaptasi terhadap media dan suhu lingkungan yang baru setelah pengenceran. Selain itu, media simpan mempunyai daya perubahan suhu yang tidak sama sehingga menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa di setiap perlakuan berbeda-beda. Agustian dkk (2014) menyatakan bahwa penurunan motilitas spermatozoa selama simpan dingin disebabkan karena adanya proses adaptasi, akibat dari lingkungan dan

suasana baru. Ihsan (2011) menambahkan bahwa proses adaptasi spermatozoa terhadap bahan pengencer dapat mengakibatkan gangguan permeabilitas membran.

Penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin ini terjadi karena selama proses penyimpanan dingin spermatozoa akan tetap mengalami metabolisme. Aktivitas metabolisme spermatozoa selama penyimpanan ini terus berlangsung baik secara *aerob* maupun *anaerob*, sehingga menyebabkan oksidasi lemak yang akan merubah sifat dan kandungan biologis dalam pengencer. Setiap bahan pengencer yang diberi perlakuan akan memiliki komponen biologis yang berbeda-beda, sehingga dapat menyebabkan rataan tingkat penurunan persentase pergerakan progresif spermatozoa pada tiap perlakuan yang tidak sama. Terlihat bahwa semen dalam bahan pengencer susu skim dengan penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 5% dalam total pengencer (P3) masih memperlihatkan persentase pergerakan progresif diatas motilitas layak IB yaitu diatas 40 % hingga jam ke 72 penyimpanan. Sedangkan semen dalam pengencer susu skim kontrol (P0), susu skim dengan penambahan 1 % EDK (P1), susu skim dengan penambahan 3 % EDK (P2), dan susu skim dengan penambahan 7 % EDK (P4), bertahan hingga sampai jam ke 48 dalam penyimpanan dingin. Hasil penelitian ini terbilang baik, namun Istanty dkk (2017) menyatakan bahwa dalam pelaksanaan IB sebaiknya semen cair yang masih layak IB perlu dibatasi penggunaannya hanya pada semen yang lama penyimpanannya kurang dari satu hari. Hal ini dilakukan untuk menghindari kemungkinan unsur subyektif yang digunakan dalam menentukan motilitas spermatozoa.

Selama proses penyimpanan dingin, spermatozoa terus bergerak aktif dan progresif di dalam media pengencer,

sehingga spermatozoa selalu membutuhkan energi. Lubis dkk (2013) menyatakan bahwa penurunan persentase motilitas spermatozoa setelah pendinginan disebabkan oleh semakin sedikitnya spermatozoa yang memiliki cadangan energi yang cukup untuk digunakan bergerak, karena spermatozoa yang telah mengalami cekaman dingin dapat mengalami destabilisasi membran. Destabilisasi membran akan meningkatkan permeabilitas membran terhadap ion-ion, termasuk ion kalsium sehingga akan berakibat terhadap meningkatnya ion kalsium dalam sitosol yang diikuti dengan meningkatnya ion kalsium dalam mitokondria. Meningkatnya konsentrasi ion kalsium dalam mitokondria ini akan menurunkan sintesa adenosa tri phospat (ATP) dalam mitokondria sehingga cadangan energi yang dapat digunakan untuk motilitas spermatozoa akan menurun. Penyimpanan dalam jangka waktu lama juga menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang membuat kondisi media menjadi semakin asam. Kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa. Pada proses *cooling*, *freezing* dan *thawing* sangat mempengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup sel membran.

Hasil uji pengamatan waktu simpan jam ke-0 memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa P3 ( $71,50 \pm 4,12\%$ ) memberikan hasil paling tinggi dan persentase motilitas spermatozoa P0 ( $60,50 \pm 4,38\%$ ) memberikan hasil paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Berbeda dengan yang Lubis dkk. (2013) bahwa tidak ada pengaruh yang nyata pada kualitas spermatozoa kambing Boer yang

disimpan dingin dalam susu skim dengan penambahan vitamin C pada jam ke-0. Keadaan ini membuktikan bahwa penambahan ekstrak daun kelor dalam pengencer susu skim langsung memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap motilitas spermatozoa pada jam ke-0. Menurut Abu, Ahemen *and* Ikpechukwu (2013), terdapat korelasi positif antara tingkat pemberian tepung daun kelor dan konsentrasi spermatozoa, dimana tepung daun kelor dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa. Afolabi, Aderaju, *and* Alagbonsi (2013) menambahkan bahwa ekstrak daun kelor secara signifikan meningkatkan jumlah spermatozoa, dan jumlah germinal sel.

Pengamatan waktu simpan jam ke-2, dimana penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa P3 ( $69,00 \pm 3,16\%$ ) memberikan hasil paling tinggi dan persentase motilitas spermatozoa P0 ( $57,50 \pm 4,25\%$ ) memberikan hasil paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pengamatan jam ke-4 setelah pengenceran juga memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dimana P3 ( $65,50 \pm 2,84\%$ ) memiliki persentase paling tinggi dan P0 ( $56,50 \pm 3,37\%$ ) menunjukkan persentase motilitas paling rendah diantara perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa suplementasi ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa. Nayak, Vadinkar, Nair, Kalthur, D'Souza, Shetty, Mutalik, Shetty, Kalthur, *and* Adiga (2015) mengungkapkan bahwa kombinasi ekstrak daun kelor dengan *cyclophosphamide* pada tikus albino jantan dapat meningkatkan kepadatan dan motilitas spermatozoa.

Waktu simpan jam ke-24 menunjukkan penurunan angka persentase motilitas yang cukup drastis dari waktu simpan jam ke-4. Penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur pada jam ke-24 masih menunjukkan pengaruh yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa P3 ( $59,50 \pm 3,69\%$ ) memberikan hasil paling tinggi dan P0 ( $49,50 \pm 2,84\%$ ) masih memberikan hasil yang paling rendah. Hal ini dimungkinkan spermatozoa telah mengalami penurunan cadangan energi dalam pengencer, karena spermatozoa telah 24 jam aktif bergerak tanpa berhenti. Nayak, *et al* (2015) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun kelor sebelum *cyclophosphamide* pada tikus albino jantan secara signifikan meningkatkan dismutase superoksida dan katalase dengan penurunan peroksidasi lipid dalam jaringan testis, sehingga membuat kepadatan dan motilitas spermatozoa semakin meningkat.

Penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur yang diamati pada waktu simpan jam ke-48 masih memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Persentase motilitas spermatozoa perlakuan P3 ( $52,50 \pm 4,25\%$ ) memberikan hasil paling tinggi dan perlakuan P0 ( $44,50 \pm 5,99\%$ ) masih memberikan hasil yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pengamatan waktu simpan jam ke-42 ini, menunjukkan bahwa semua perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 masih mempertahankan motilitas diatas 40%. Menurut Raji and Njidda (2014), suplementasi daun kelor pada tingkat inklusi 50% dapat digunakan untuk meningkatkan cadangan spermatozoa, motilitas, pH gonad dan ekstra-gonad dari Kambing Red Sokoto jantan. George,



Ologbose, *and* Akintola (2017) menyatakan bahwa hasil motilitas spermatozoa secara signifikan dipengaruhi oleh perlakuan, dengan kata lain, motilitas individu spermatozoa lebih tinggi pada kelinci yang diberi tingkat tepung daun kelor tertinggi.

Persentase motilitas spermatozoa perlakuan P3 ( $42,50 \pm 4,25\%$ ) pada pengamatan jam ke-72 tetap menunjukkan angka yang paling tinggi dan perlakuan P0 ( $31,50 \pm 4,74\%$ ) merupakan angka persentase motilitas terendah. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur tetap memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Antioksidan dalam ekstrak daun kelor sebanyak 5% dalam pengencer susu skim kuning telur diduga memberikan pengaruh yang optimal, dimana mampu mempertahankan motilitas layak IB hingga waktu simpan jam ke-72. Menurut El-Desoky, Hashem, Elkomy *and* Abo-elezz (2017) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun kelor sebanyak 60 mg/kg BB pada kelinci jantan dapat meningkatkan secara signifikan pergerakan ke depan (motilitas individu) spermatozoa.

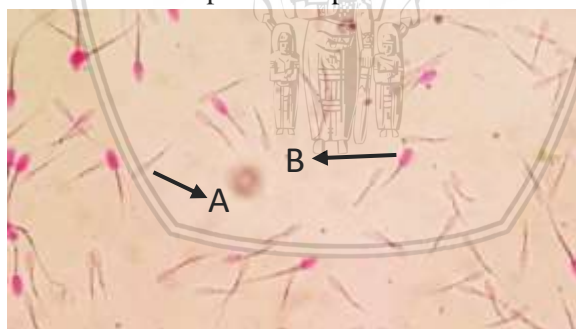
Uji kualitas semen kambing Boer berdasarkan pengamatan motilitas individu spermatozoa didapatkan hasil bahwa perlakuan penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 5% dalam pengencer susu skim kuning telur memberikan hasil yang terbaik. Perlakuan P3 mampu bertahan hingga 72 jam penyimpanan dingin dalam refrigerator pada suhu  $3-5^{\circ}\text{C}$  dengan angka persentase motilitas yaitu  $42,50 \pm 4,25\%$  (diatas SNI = 40%). Hal ini diduga karena dengan penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 5% dalam pengencer terjadi optimalisasi antioksidan dalam menangkal radikal bebas.



Menurut Muthukumar *et al.* (2012), komponen bioaktif yang cukup tinggi, seperti asam askorbat, karotenoid dan senyawa fenolik sangat berperan dalam memperpanjang masa simpan produk.

#### 4.3 Viabilitas Spermatozoa Selama Simpan Dingin

Viabilitas atau persentase daya hidup spermatozoa merupakan salah satu parameter penentu kualitas semen karena dapat mengetahui berapa persen spermatozoa yang hidup. Penentuan spermatozoa yang hidup dilakukan dengan pewarnaan eosin negrosin pada semen, kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X. Bila semen dicampur dengan zat warna tersebut maka spermatozoa hidup tidak akan menyerap warna (putih) dan spermatozoa yang mati akan menyerap warna (merah). Perbedaan spermatozoa hidup dan spermatozoa mati dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Viabilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X

Keterangan: A= Spermatozoa hidup (tidak menyerap warna / putih)

B= Spermatozoa mati (menyerap warna/ merah)

Lama waktu penyimpanan dingin semen cair berbanding lurus dengan jumlah spermatozoa yang mati. Semakin lama semen disimpan pada suhu dingin semakin banyak terlihat spermatozoa yang menyerap warna pada saat pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa semakin rendah dan linier dengan motilitas spermatozoa yang semakin menurun juga persentasenya. Rataan nilai persentase viabilitas spermatozoa kambing Boer selama simpan dingin dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Rataan persentase viabilitas spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin

Pengamatan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	64,76±4,13 <sup>a</sup>	69,22±4,14 <sup>ab</sup>	73,85±5,05 <sup>b</sup>	77,25±4,66 <sup>b</sup>	76,84±4,69 <sup>b</sup>
Jam ke-2	63,37±4,09 <sup>a</sup>	66,92±3,03 <sup>ab</sup>	73,46±4,62 <sup>b</sup>	76,17±3,05 <sup>b</sup>	74,76±5,30 <sup>b</sup>
Jam ke-4	62,97±4,04 <sup>a</sup>	64,73±2,46 <sup>ab</sup>	69,34±4,00 <sup>b</sup>	70,15±2,70 <sup>b</sup>	67,64±2,50 <sup>b</sup>
Jam ke-24	55,98±3,58 <sup>a</sup>	59,69±2,58 <sup>ab</sup>	60,52±3,95 <sup>b</sup>	66,56±3,57 <sup>c</sup>	63,87±4,28 <sup>bc</sup>
Jam ke-48	51,58±3,64 <sup>a</sup>	53,24±2,92 <sup>ab</sup>	54,41±3,96 <sup>ab</sup>	59,20±3,76 <sup>b</sup>	56,46±4,69 <sup>b</sup>
Jam ke-72	42,07±4,41 <sup>a</sup>	46,43±4,41 <sup>ab</sup>	47,81±3,68 <sup>ab</sup>	53,12±5,99 <sup>b</sup>	48,25±4,77 <sup>b</sup>

Keterangan: Notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan ( $P < 0,01$ ).

Tabel 9 diatas menunjukkan bahwa rata-rata persentase viabilitas spermatozoa kambing Boer selama penyimpanan dingin dalam berbagai perlakuan mengalami penurunan. Penurunan persentase viabilitas spermatozoa ini linier dengan persentase motilitas spermatozoa, semakin rendah persentase motilitas individu spermatozoa, maka semakin rendah pula

persentase viabilitas yang diperoleh dalam pengamatan. Terdapat perbedaan nilai persentase viabilitas dengan nilai persentase motilitas individu, dimana diketahui bahwa persentase viabilitas relatif lebih tinggi daripada persentase motilitas individu spermatozoa. Hal ini diduga bahwa spermatozoa yang tidak progresif belum tentu mati, karena spermatozoa tersebut mengalami *cold shock* dan tidak mampu bergerak progresif. Triana (2006) menyatakan bahwa spermatozoa yang motil selalu hidup, tapi spermatozoa hidup belum tentu motil. Husin dkk (2007) menyebutkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa lebih tinggi dari persentase motilitas adalah normal karena spermatozoa yang bergerak kurang progresif merupakan spermatozoa yang masih hidup dan masih dapat memfertilisasi ovum.

Adanya perbedaan penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur, membuat perubahan secara biologis dalam media. Terlihat pada Tabel 7 diatas, dapat diketahui bahwa rata-ran nilai penurunan persentase daya hidup spermatozoa pada tiap perlakuan tidak sama. Penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 5% (P3) dalam susu skim dengan masih memperlihatkan persentase viabilitas diatas 50% hingga jam ke-72 simpan dingin, sedangkan perlakuan kontrol (P0), susu skim dengan penambahan 1 % EDK (P1), susu skim dengan penambahan 3 % EDK (P2), dan susu skim dengan penambahan 7 % EDK (P4), bertahan hingga sampai jam ke 48 dalam penyimpanan dingin suhu 3 – 5 °C.

Selama proses penyimpanan dingin pengaruh lama waktu simpan menyebabkan semakin meningkatnya tingkat keasamaan (pH) semen serta semakin bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak dan mati akibat pendinginan. Hal ini didukung Triana (2006), yang menyatakan bahwa adanya

perubahan metabolisme spermatozoa dari karbohidrat menjadi asam laktat yang semakin lama semakin habis sehingga asam laktat yang meningkat semakin bertambah banyak dan menyebabkan kematian pada spermatozoa tersebut.

Hasil uji menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur pada pengamatan waktu simpan jam ke-0 memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase viabilitas spermatozoa. Perlakuan P3 ( $77,25 \pm 4,66\%$ ) memberikan nilai viabilitas yang paling tinggi, dan perlakuan P0 ( $64,76 \pm 4,13\%$ ) memberikan hasil paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Agustian dkk (2014) menyatakan bahwa pada saat dilakukan pengenceran yang mengakibatkan adanya kerusakan membran sel sehingga terjadi kematian sel. Viabilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh penurunan suhu kondisi lingkungan. Hal ini sesuai dengan Lestari, Ihsan, dan Isnaini (2014) menyatakan bahwa proses berlangsungnya pengenceran semen dapat merusak membran sel spermatozoa sehingga mengakibatkan spermatozoa mati. Kerusakan membran sel spermatozoa akan berdampak pada membran semi permeabel yang tidak lagi mampu menyeleksi keluar masuknya zat, sehingga pada saat dilakukan uji warna, eosin-negrosin tersebut masuk ke dalam plasma.

Pengamatan pada waktu simpan jam ke-2, dimana penambahan ekstrak daun kelor dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase viabilitas spermatozoa. Perlakuan P3 ( $76,17 \pm 3,05\%$ ) memberikan hasil viabilitas tertinggi dan perlakuan P0 ( $63,37 \pm 4,09\%$ ) memberikan hasil paling rendah. Suplementasi ekstrak daun kelor dalam susu skim memberikan pengaruh positif terhadap persentase viabilitas spermatozoa.

Hal ini sesuai dengan El-Desoky *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa persentase terbesar dari sel spermatozoa hidup (viabilitas) dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan pemberian ekstrak daun kelor.

Waktu simpan jam ke-4 berpengaruh sangat nyata ( $p<0,01$ ) terhadap persentase viabilitas spermatozoa kambing Boer. Perlakuan P3 dengan rata-rata viabilitas  $70,15\pm2,70\%$  memberikan hasil viabilitas tertinggi, dan perlakuan P0 dengan rata-rata viabilitas  $62,97\pm4,04\%$  memberikan hasil paling rendah. Menurut Munazaroh dkk (2013), terjadinya penurunan viabilitas spermatozoa setelah proses pendinginan disebabkan oleh pengaruh fisik saat perlakuan yang menyebabkan kematian. Pengaruh fisik tersebut diakibatkan oleh gesekan antar spermatozoa, antara spermatozoa dengan dinding tabung, atau antara globul lemak dari kuning telur sehingga menyebabkan kecenderungan penurunan viabilitas seiring dengan tingkat pengenceran yang berbeda.

Penurunan persentase viabilitas spermatozoa terjadi pada setiap perlakuan yang berbeda dan berpengaruh sangat nyata ( $p<0,01$ ) pada pengamatan waktu simpan jam ke-24. Perlakuan P3 ( $66,56\pm3,57\%$ ) memberikan hasil viabilitas paling tinggi dan perlakuan P0 ( $55,98\pm3,58\%$ ) memberikan hasil terendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pengamatan pada jam ke-24 terjadi penurunan persentase viabilitas yang cenderung drastis, hal ini diduga masa simpan waktu yang lama mengakibatkan penggunaan energi bagi spermatozoa cukup banyak sehingga merubah kondisi lingkungan pengencer. Susilawati (2011) menyatakan bahwa penurunan temperatur akan menurunkan metabolisme spermatozoa yang berakibat pada menurunnya produksi energi

yang bisa digunakan sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesis).

Hasil pengamatan pada waktu simpan jam ke-48 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $p<0,01$ ) terhadap viabilitas. Nilai persentase viabilitas spermatozoa pada perlakuan dari yang terendah hingga tertinggi berturut-turut yaitu P0 ( $51,58\pm3,64\%$ ), P1 ( $53,24\pm2,92\%$ ), P2 ( $54,41\pm3,96\%$ ), P4 ( $56,46\pm4,69\%$ ), dan P3 ( $59,20\pm3,76\%$ ). Semakin lama waktu simpan pada suhu dingin  $3-5^{\circ}\text{C}$ , semakin menurun pula viabilitas spermatozoa. Menurut Lubis dkk (2013), penyimpanan dingin dalam jangka waktu lama, selain menyebabkan penurunan motilitas juga menyebabkan penurunan viabilitas spermatozoa. Hal ini sebabkan adanya asam laktat sisa metabolisme sel spermatozoa yang membuat kondisi medium menjadi semakin asam dan kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa.

Pengamatan pada waktu simpan jam ke-72 menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata ( $p<0,01$ ) terhadap viabilitas spermatozoa. Persentase viabilitas dari tertinggi hingga terendah secara berturut-turut adalah P3 ( $53,12\pm5,99\%$ ), P4 ( $48,25\pm4,77\%$ ), P2 ( $47,81\pm3,68\%$ ), P1 ( $46,43\pm4,41\%$ ), dan P0 ( $42,07\pm4,41\%$ ). Waktu simpan jam ke-72, hanya perlakuan P3 yang mampu mempertahankan persentase viabilitas diatas angka 50%. Hal ini diduga antioksidan ekstrak daun kelor pada perlakuan P3 bekerja optimal, sehingga mampu mempertahankan viabilitas semen kambing Boer. Dafaalla, Abass, Abdoun, Hassan, and Idris (2017) menyatakan bahwa pemberian ekstrak biji kelor secara signifikan meningkatkan viabilitas spermatozoa dibandingkan dengan kelompok kontrol. George *et al.* (2017) menyatakan

bahwa terdapat penurunan yang signifikan dalam persentase viabilitas antara kelinci yang diberi berbagai tingkat tepung daun kelor dalam perlakuan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung daun kelor dapat mengurangi kematian spermatozoa.

Mugiyati, Salim, Isnaini, dan Susilawati (2017) menyatakan bahwa viabilitas spermatozoa termasuk dalam kategori yang baik apabila persentase daya hidup spermatozoa diatas 50%. Adanya penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 5% dalam perlakuan P3 mengindikasikan bahwa senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun kelor mampu bekerja secara optimal dan konstan. Perlu diketahui bahwa daun kelor merupakan sumber senyawa fenolik yang baik yang mampu mencegah terjadinya oksidasi lemak (Shah, *et al.*, 2015). Fatoba, Faleyimu, and Adebayo (2013) menyatakan bahwa tikus yang diberi perlakuan ekstrak kelor memiliki kemampuan hidup yang lebih tinggi daripada kontrol. Kecenderungan ini menunjukkan bahwa ekstrak kelor meningkatkan viabilitas dan kualitas spermatozoa.

#### **4.4 Abnormalitas Spermatozoa Selama Simpan Dingin**

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu parameter penting yang dapat menentukan tingkat fertilitas spermatozoa. Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan atau tidak normalnya spermatozoa yang dibagi menjadi dua macam yakni abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas spermatozoa yang didapat saat penelitian dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Abnormalitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X

Keterangan: A= Spermatozoa normal  
B= Spermatozoa kepala dua  
C= Spermatozoa tanpa ekor

Gambar 11 diatas menunjukkan bahwa terdapat abnormalitas spermatozoa, yaitu (b) spermatozoa kepala dua termasuk abnormalitas primer, dan (c) spermatozoa tanpa ekor termasuk abnormalitas sekunder. Susilawati (2013) menyatakan abnormalitas tersebut dikategorikan menjadi 2 macam, abnormalitas primer terjadi pada waktu spermatogenesis dan abnormalitas sekunder yang diakibatkan oleh kesalahan dalam waktu penanganan setelah penampungan semen segar. Lestari dkk (2014) menambahkan bahwa abnormalitas sekunder terjadi setelah ejakulasi sampai pada proses *handling*. Semua sel spermatozoa dengan ekor melingkar atau ekor ganda, bagian tengah yang rusak dan kepala yang rusak atau terlepas dianggap tidak normal (Sokunbi *et al.*, 2015).

Hasil pengamatan spermatozoa abnormal dihitung dan dibuat persentase kemudian dirata-rata untuk mengetahui



pengaruh dari perlakuan. Rataan abnormalitas spermatozoa selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin

Pengamatan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	4,31±1,54 <sup>b</sup>	3,05±1,03 <sup>ab</sup>	3,09±1,12 <sup>ab</sup>	2,57±1,42 <sup>a</sup>	2,49±1,34 <sup>a</sup>
Jam ke-2	4,26±1,39 <sup>b</sup>	3,01±0,91 <sup>ab</sup>	3,12±1,09 <sup>ab</sup>	2,79±1,37 <sup>ab</sup>	2,61±1,26 <sup>a</sup>
Jam ke-4	4,36±1,23 <sup>b</sup>	3,40±0,65 <sup>ab</sup>	3,15±0,92 <sup>ab</sup>	3,11±0,83 <sup>a</sup>	3,84±1,01 <sup>ab</sup>
Jam ke-24	4,73±1,10	4,02±1,05	3,82±0,79	3,64±0,98	3,89±1,06
Jam ke-48	4,97±0,96 <sup>b</sup>	4,44±1,22 <sup>ab</sup>	4,01±0,62 <sup>ab</sup>	3,65±0,64 <sup>a</sup>	3,89±1,16 <sup>ab</sup>
Jam ke-72	5,26±0,83	4,99±1,72	4,69±0,78	4,08±0,98	4,21±0,83

Keterangan: Notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $P < 0,05$ ).

Tabel 10 menunjukkan bahwa cenderung terjadi peningkatan abnormalitas spermatozoa disetiap waktu pengamatan pada semua perlakuan. Persentase abnormalitas spermatozoa ini berlawanan dengan motilitas dan viabilitas, dimana semakin menurun persentase motilitas dan viabilitas maka semakin meningkat nilai persentase abnormalitas. Abnormalitas terjadi karena spermatozoa mengalami kecacatan pada salah satu atau seluruh bagian tubuh spermatozoa. Abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini termasuk dalam kategori yang baik, karena abnormalitas tertinggi tidak mencapai 10%. Hartono (2010) menyatakan bahwa semen kambing yang baik untuk IB yaitu memiliki abnormalitas kurang dari 15%. Lestari dkk (2014)

menambahkan bahwa spermatozoa yang memiliki morfologi normal merupakan syarat bagi terjadinya fertilisasi.

Hasil uji menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur pada pengamatan waktu simpan jam ke-0 memberikan pengaruh perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa. Rata-rata abnormalitas terbaik yaitu P4 dengan hasil rata-rata dari terendah sampai tertinggi P4 ( $2,49 \pm 1,34\%$ ), P3 ( $2,57 \pm 1,42\%$ ), P1 ( $3,05 \pm 1,03\%$ ), P2 ( $3,09 \pm 1,12\%$ ) dan P0 ( $4,31 \pm 1,54\%$ ). Pemberian ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur lebih mampu mencegah terjadinya abnormalitas daripada perlakuan kontrol. Menurut Elballat (2016), mengungkapkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dapat menurunkan kelainan pada morfologi spermatozoa. Chatterjee, Anantharaya, Shiva, Kumar, Shetty, Budihal, Bhat *and* Kunai (2017) menambahkan bahwa komponen aktif kelor ini mengikat radikal bebas, sehingga menawarkan perlindungan terhadap kerusakan oksidatif pada molekul makro seluler. Penangkal radikal bebas ini mungkin termasuk polifenol, flavonoid, dan senyawa fenolik.

Pengamatan pada waktu simpan jam ke-2 memberikan pengaruh perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa kambing Boer. Rataan persentase abnormalitas dari yang terendah sampai tertinggi yaitu P4 ( $2,61 \pm 1,26\%$ ), P3 ( $2,79 \pm 1,37\%$ ), P1 ( $3,01 \pm 0,91\%$ ), P2 ( $3,12 \pm 1,09\%$ ), dan P0 ( $4,26 \pm 1,39\%$ ). Pada jam ke-0 dan ke-2 abnormalitas terbaik yaitu P4, berbeda dengan motilitas dan viabilitas yang perlakuan terbaiknya P3. Hal ini diduga penambahan ekstrak daun kelor sebanyak 7% (P4) menyebabkan kondisi pengencer menjadi racun karena terdapat antinutrisi pada daun kelor. Adanya antinutrisi ini

perlahan membuat spermatozoa mengalami kematian namun tidak menyebabkan kerusakan pada fisik spermatozoa, sehingga abnormalitasnya menjadi rendah. Cahyadi, Christiyanto, dan Setiatin (2016) menyatakan bahwa penurunan persentase abnormalitas disebabkan karena antioksidan berupa vitamin C yang menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan sel spermatozoa menjadi cacat atau abnormal.

Waktu simpan pada jam ke-4 memberikan pengaruh perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap abnormalitas semen kambing Boer. Pada jam ke-4 ini persentase dengan rata-ran terbaik terdapat pada perlakuan P3 dengan hasil rata-ran dari yang terendah sampai tertinggi yaitu P3 ( $3,11 \pm 0,83\%$ ), P2 ( $3,15 \pm 0,92\%$ ), P1 ( $3,40 \pm 0,65\%$ ), P4 ( $3,84 \pm 1,01\%$ ), dan P0 ( $4,36 \pm 1,23\%$ ). Hasil pengamatan pada jam ke-4 ini berbeda dengan pengamatan pada jam ke-0 dan ke-2, dimana P3 menjadi perlakuan terbaik pada jam ke-4. Kondisi ini diduga oleh menumpuknya spermatozoa yang mengalami kematian yang menghambat pergerakan progresif, sehingga terjadi gesekan antar spermatozoa yang menyebabkan peningkatan abnormalitas. Lestari dkk (2013) menyatakan bahwa peningkatan jumlah spermatozoa yang mengalami abnormalitas diakibatkan oleh pengaruh fisik pada saat perlakuan dimana spermatozoa saling bergesekan satu sama lain sehingga menyebabkan abnormalitas sekaligus kematian. Abnormalitas spermatozoa juga dapat terjadi karena tekanan yang keras, pemanasan yang berlebihan, pendinginan yang cepat dan kontaminasi dengan air, kuman dan bahan antiseptik.

Pengamatan pada waktu simpan jam ke-48 memberikan hasil pengaruh perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap

abnormalitas spermatozoa. Rata-rata abnormalitas yang terbaik yaitu perlakuan P3 dengan hasil rata-rata dari terendah sampai tertinggi P3 ( $3,65 \pm 0,64\%$ ), P4 ( $3,89 \pm 1,16\%$ ), P2 ( $4,01 \pm 0,62\%$ ), P1 ( $4,44 \pm 1,22\%$ ) dan P0 ( $4,97 \pm 0,96\%$ ). Salah satu faktor yang mempengaruhi abnormalitas spermatozoa, yaitu suhu yang fluktuatif saat penanganan pengenceran semen karena dapat menyebabkan spermatozoa stress sehingga spermatozoa banyak mengalami kerusakan dan kematian. Menurut Munazaroh dkk (2013), peningkatan abnormalitas setelah proses pendinginan disebabkan oleh pengaruh fisik spermatozoa. Perubahan suhu dapat menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel dinding spermatozoa dan mengakibatkan pemecahan membran plasma, dan pengeluaran enzim. Kondisi demikian menyebabkan peningkatan abnormalitas spermatozoa. Abavisani, Arshami, Naserian, Kandelousi, and Azizzadeh (2013) menyatakan bahwa tingkat kerusakan spermatozoa disebabkan berbagai kondisi yang berbeda seperti perubahan pada permeabilitas, fluiditas, komposisi membran lipid dan gangguan pada membran spermatozoa. Nayak *et al* (2015) menyatakan bahwa kombinasi ekstrak daun kelor dengan *cyclophosphamide* dapat mengurangi cacat kepala dan kerusakan DNA.

Hasil pengamatan yang dilakukan pada waktu simpan jam ke-24 dan jam ke-72 memberikan hasil perbedaan yang tidak nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap abnormalitas spermatozoa. Rataan abnormalitas perlakuan dari yang terendah hingga tertinggi pada jam ke-24 yaitu P3 ( $3,64 \pm 0,98\%$ ), P2 ( $3,82 \pm 0,79\%$ ), P4 ( $3,89 \pm 1,06\%$ ), P1 ( $4,02 \pm 1,05\%$ ), dan P0 ( $4,73 \pm 1,10\%$ ). Rataan persentase abnormalitas pada waktu simpan jam ke-72 dari yang terendah sampai tertinggi yaitu P3 ( $4,08 \pm 0,98\%$ ), P4 ( $4,21 \pm 0,83\%$ ), P2 ( $4,69 \pm 0,78\%$ ), P1

( $4,99 \pm 1,72\%$ ), dan P0 ( $5,26 \pm 0,83\%$ ). Pengamatan pada waktu simpan jam ke-72 menunjukkan hasil bahwa P0 ( $5,26 \pm 0,83\%$ ) memiliki rata-rata abnormalitas tertinggi, namun angka persentase abnormalitas ini masih dalam kategori normal. Hasil ini bahkan lebih baik daripada abnormalitas semen segar dalam penelitian Elhammali *et al.* (2013) yaitu sebesar  $5,70 \pm 0,71\%$ .

Terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa, tergantung penanganan yang dilakukan. Pengamatan abnormalitas pada semen yang disimpan dingin dalam penelitian ini cenderung mengalami peningkatan. Menurut Mohammed, Khalil, and Al-Saef (2012), spermatozoa cenderung mengalami kerusakan dan kerusakan yang cukup besar terjadi selama proses pengenceran dan pengawetan pada suhu rendah (dingin). Penelitian penyimpanan semen kambing Boer dalam pengencer susu skim kuning telur dengan penambahan ekstrak daun kelor dikategorikan baik dan layak untuk digunakan untuk IB. Hartono (2010) menyatakan bahwa semen kambing yang baik untuk inseminasi buatan adalah semen yang mengandung spermatozoa abnormal kurang dari 15%. Apabila persentase abnormalitas spermatozoa lebih dari 15% menunjukkan adanya infertilitas atau ketidaksuburan pejantan dan akan menurunkan fertilitas karena tidak dapat membuahi sel telur.

Munazaroh dkk (2013) menambahkan bahwa jumlah spermatozoa abnormal yang semakin meningkat, akan menyebabkan rendahnya kesuburan ternak tersebut. Sel spermatozoa yang cacat, walaupun dapat membuahi sel telur namun biasanya berakhir dengan kematian anak sebelum dilahirkan. Faktor lain yang mempengaruhi peningkatan abnormalitas adalah tindakan kurang hati-hati pada saat

perlakuan, mencairkan semen dengan cairan yang tidak sama isotonisnya, *cold shock*, panas, dan gangguan nutrisi. Peningkatan jumlah spermatozoa yang mengalami abnormalitas diakibatkan oleh pengaruh fisik pada saat perlakuan, dimana spermatozoa saling bergesekan satu sama lain sehingga menyebabkan abnormalitas sekaligus kematian.

#### 4.5 Integritas Membran Selama Simpan Dingin

Membran spermatozoa berfungsi sebagai sarana transportasi energi dalam bentuk ATP yang dihasilkan oleh enzim di dalam mitokondria melalui siklus kreb, dengan demikian dapat dinyatakan bahwa spermatozoa yang motil progresif harus memiliki membran yang utuh. Keutuhan membran plasma sangat penting bagi spermatozoa, karena jika membran spermatozoa rusak maka tidak dapat diperbaiki lagi. Spermatozoa yang membrannya rusak memiliki daya fertilisasi yang rendah, karena membran yang rusak selain tidak dapat diperbaiki, juga mengakibatkan cairan intraseluler keluar, sedangkan cairan ini mengandung molekul (unsur-unsur) yang sangat dibutuhkan saat bersatunya sperma dan sel telur dalam proses fertilisasi (Putri, Gunawan, dan Kaiin., 2015).

Menurut Rasul, Ahmad, and Anzar (2001), integritas membran merupakan suatu keadaan membran plasma yang harus tetap terjaga keutuhannya untuk mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa, motilitas dan kemampuan fertilisasi. Hal ini disebabkan karena membran plasma berfungsi sebagai pembatas sel kontineus, yang melindungi organel-organel sel dari kerusakan mekanik dan mengatur lalu lintas keluar masuknya zat-zat makanan serta ion-ion yang diperlukan dalam proses metabolisme. Kerusakan pada

membran plasma mengakibatkan terganggunya proses metabolisme dan proses fisiologis, sehingga menyebabkan kematian pada spermatozoa. Zubair, Lodhi, Ahmad, and Muhammad (2013) menambahkan bahwa pentingnya integritas fungsional dari membran plasma spermatozoa yaitu untuk mengetahui kesuburan sel gonad ternak jantan.

Integritas membran spermatozoa diuji dengan menggunakan *Hypoosmotic Swelling Test*. Spermatozoa dengan membran normal (integritas membran baik) ditandai dengan ekornya yang melingkar pada bagian ujung, sedangkan spermatozoa dengan membran tidak normal (integritas membran buruk) ditandai dengan ekor yang lurus (Susilawati, 2013). Hasil pengamatan integritas membran spermatozoa menggunakan HOST dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Spermatozoa dengan uji HOST yang diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X

Keterangan: A= Spermatozoa ekor melingkar

B= Spermatozoa ekor lurus

Gambar 12 diatas menunjukkan bahwa spermatozoa dengan membran plasma yang baik ditandai dengan ekor spermatozoa yang melingkar dan integritas membran plasma

yang buruk ditandai dengan ekor spermatozoa yang lurus. Menurut Fonseca, Tores, Mafflli, Borges, Santos, Rodrigues, and Oilveira (2005), spermatozoa hidup atau mempunyai membran plasma baik, maka ketika terkena media hiposmotik yang dipaparkan, spermatozoa akan aktif secara biokimia meningkatkan volumenya untuk menciptakan kesetimbangan antara kompartemen cairan dalam dan lingkungan ekstraseluler spermatozoa, sehingga larutan hiposmotik dapat masuk ke dalam spermatozoa. Media HOST menyebabkan perluasan sel membran ekor spermatozoa sehingga membengkak dan puncaknya. Proses pembengkakan ini memuncak ketika terjadi perluasan bidang dari selaput sel yang menutupi ekor, sehingga memaksa flagellum untuk melilit. Penggulungan ekor dimulai pada ujung distal dari ekor dan berlanjut ke bagian tengah dan kepala ketika tekanan osmotik dari media yang digunakan menurun. Indriani, Susilawati, dan Wahjuningsih (2013) menambahkan bahwa spermatozoa dengan membran utuh ditandai dengan ekor yang melingkar atau bengkok sebagai akibat masih berfungsinya membran dalam penyerapan cairan pada lingkungan yang bersifat hipotonik. Sedangkan spermatozoa yang mempunyai membran plasma rusak tidak dapat menyesuaikan diri dengan tekanan osmotik, tidak mampu menahan air yang masuk, sehingga tidak menggelembung.

Integritas membran berbanding terbalik dengan lama waktu simpan semen, dimana semakin lama waktu simpan maka semakin kecil persentase integritas plasma spermatozoa. Hasil pengamatan integritas plasma dihitung dan dibuat persentase kemudian dirata-rata setiap perlakuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap integritas membran



spermatozoa. Rataan persentase integritas membran spermatozoa kambing Boer dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Rataan persentase integritas membran spermatozoa (%) pada berbagai perlakuan selama simpan dingin

Pengamatan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Jam ke-0	66,21±4,44 <sup>a</sup>	70,29±4,78 <sup>ab</sup>	75,39±3,75 <sup>b</sup>	79,03±4,35 <sup>b</sup>	75,93±5,31 <sup>b</sup>
Jam ke-2	64,42±4,04 <sup>a</sup>	68,25±3,44 <sup>ab</sup>	73,68±4,17 <sup>b</sup>	75,36±3,72 <sup>b</sup>	74,27±4,35 <sup>b</sup>
Jam ke-4	63,60±3,51 <sup>a</sup>	65,45±3,63 <sup>ab</sup>	69,35±2,59 <sup>b</sup>	69,44±4,59 <sup>b</sup>	68,91±3,27 <sup>b</sup>
Jam ke-24	53,88±2,56 <sup>a</sup>	57,75±2,50 <sup>ab</sup>	59,06±3,87 <sup>b</sup>	64,77±3,49 <sup>c</sup>	61,92±4,28 <sup>bc</sup>
Jam ke-48	48,19±4,34 <sup>a</sup>	50,09±2,23 <sup>ab</sup>	52,91±4,10 <sup>b</sup>	58,13±3,74 <sup>c</sup>	53,23±4,30 <sup>b</sup>
Jam ke-72	39,18±5,14 <sup>a</sup>	43,43±5,42 <sup>ab</sup>	46,78±3,75 <sup>b</sup>	50,63±5,81 <sup>b</sup>	47,12±5,49 <sup>b</sup>

Keterangan: Notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan ( $P < 0,01$ ).

Berdasarkan Tabel 11 diatas menunjukkan bahwa persentase integritas membran plasma spermatozoa mengalami penurunan di setiap waktu pengamatan. Penurunan persentase integritas membran plasma spermatozoa ini linier dengan motilitas dan viabilitas, dimana semakin menurun persentase motilitas dan viabilitas maka semakin menurun pula nilai persentase integritas. Mohammed *et al* (2012) menyatakan bahwa tingkat pendinginan untuk semen tidak boleh terlalu cepat karena menyebabkan kematian sel oleh kejutan dingin atau tidak boleh terlalu lambat karena menyebabkan kematian oleh tekanan osmotik (*osmotic shock*).

Hasil uji pada pengamatan waktu jam ke-0 memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap

persentase integritas membran spermatozoa. Rataan integritas membran dari tertinggi sampai terendah yaitu P3 ( $79,03 \pm 4,35\%$ ), P4 ( $75,93 \pm 5,31\%$ ), P2 ( $75,39 \pm 3,75\%$ ), P1 ( $70,29 \pm 4,78\%$ ) dan P0 ( $66,21 \pm 4,44\%$ ). Penurunan integritas membran plasma ini diduga spermatozoa mengalami *cold shock* dan dalam kondisi adaptasi terhadap lingkungan yang baru. Sejak awal dilakukan pengenceran spermatozoa perlahan-lahan mengalami kerusakan dan penurunan persentase integritas membran dari semen segar. Menurut Fernandes, de Carvalho, Serra, Crespilho, Peron, Rossato, Leal-Junior, and Albertini (2015), pendinginan semen dapat merusak membran plasma dan akrosom spermatozoa akibat perubahan pada integritas kromatin spermatozoa. Khalifa and Lymberopoulos (2013) menambahkan jika pendinginan semen pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$  dapat meningkatkan kerentanan dan ketidakstabilan kromatin spermatozoa.

Waktu simpan jam ke-2 memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap integritas membran plasma spermatozoa. Rataan persentase integritas membran dari tertinggi sampai terendah P3, yaitu ( $75,36 \pm 3,72\%$ ), P4 ( $74,27 \pm 4,35\%$ ), P2 ( $73,68 \pm 4,17\%$ ), P1 ( $68,25 \pm 3,44\%$ ) dan P0 ( $64,42 \pm 4,04\%$ ). Penurunan integritas membran plasma dari waktu simpan jam ke-0 sampai waktu simpan jam ke-2 pada setiap perlakuan tidak menurun secara drastis. Kondisi ini mengindikasikan bahwa penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur mampu mempertahankan keadaan biologis pengencer. Kombinasi ekstrak daun kelor dan kuning telur dalam pengencer susu skim mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Crespilho, Sa Filho, Dell'Aqua, Nichi, Monteiro, Avanzi, Martins, and Papa (2012) menyatakan bahwa setelah proses

pengenceran, membran spermatozoa yang utuh tergantung pada pengencer dengan kuning telur. Kuning telur memiliki kandungan lipoprotein dan fosfolipid yang mampu melindungi membran plasma karena terjadi peningkatan proporsi kolesterol dan fosfolipid yang menjaga spermatozoa dari *cold shock*. El-Desoky *et al* (2017) menambahkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor pada pakan kelinci memberikan korelasi positif terhadap spermatozoa dengan akrosom utuh (integritas membran plasma).

Pengamatan spermatozoa pada waktu simpan jam ke-4 memberikan pengaruh hasil perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap integritas membran spermatozoa. Rataan nilai integritas membran yang terbaik terdapat pada perlakuan P3 dengan rata-rata dari tertinggi sampai terendah yaitu P3 ( $69,44 \pm 4,59\%$ ), P2 ( $69,35 \pm 2,59\%$ ), P4 ( $68,91 \pm 3,27\%$ ), P1 ( $65,45 \pm 3,63\%$ ), dan P0 ( $63,60 \pm 3,51\%$ ). Penurunan integritas membran plasma spermatozoa sangat dipengaruhi oleh kondisi pada pengencer sebagai medianya untuk hidup. Barati, Papahn, Afrough, and Barati (2011) menyatakan bahwa kualitas spermatozoa yang disimpan dalam suhu dingin diatas  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  sangat tergantung pada osmolaritas, suhu dan waktu penyimpanan pada media simpan.

Hasil uji pada pengamatan waktu simpan jam ke-24 dan waktu simpan jam ke-48 memberikan pengaruh perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap integritas membran spermatozoa. Waktu simpan jam ke-24 menunjukkan bahwa perlakuan P3 memberikan hasil terbaik, dengan rata-rata persentase dari tertinggi sampai terendah yaitu P3 ( $64,77 \pm 3,49\%$ ), P4 ( $61,92 \pm 4,28\%$ ), P2 ( $59,06 \pm 3,87\%$ ), P1 ( $57,75 \pm 2,50\%$ ), dan P0 ( $53,88 \pm 2,56\%$ ). Sedangkan pada waktu simpan jam ke-48, perlakuan P3 masih memberikan

hasil yang terbaik dengan rata-rata persentase integritas membran plasma spermatozoa dari yang tertinggi sampai yang terendah yaitu P3 ( $58,13 \pm 3,74\%$ ), P4 ( $53,23 \pm 4,30\%$ ), P2 ( $52,91 \pm 4,10\%$ ), P1 ( $50,09 \pm 2,23\%$ ), dan P0 ( $48,19 \pm 4,34\%$ ). Hal ini diduga adanya antioksidan yang terkandung dalam daun kelor mampu mempertahankan membran spermatozoa dari radikal bebas. Menurut Afolabi *et al* (2013) produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan menghasilkan penghancuran kapasitas antioksidan spermatozoa dan plasma seminal sehingga menyebabkan stres oksidatif yang merusak membran spermatozoa dan menyebabkan infertilitas. Pengobatan dengan ekstrak daun kelor mampu meningkatkan jumlah spermatozoa dan jumlah sel germinal tikus cryptorchid, ini terjadi karena sifat antioksidan daun kelor mampu mengatasi stres oksidatif cryptorchidism.

Persentase integritas membran pada pengamatan waktu simpan jam ke-72 menunjukkan hasil perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) antar perlakuan. Perlakuan P3 tetap memberikan hasil terbaik dengan rata-rata persentase integritas membran plasma spermatozoa dari yang tertinggi sampai yang terendah yaitu P3 ( $50,63 \pm 5,81\%$ ), P4 ( $47,12 \pm 5,49\%$ ), P2 ( $46,78 \pm 3,75\%$ ), P1 ( $43,43 \pm 5,42\%$ ), dan P0 ( $39,18 \pm 5,14\%$ ). Penurunan integritas membran ini diakibatkan penyimpanan dalam jangka waktu lama, adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH dan kondisi ini dapat bersifat racun terhadap spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa. Menurut Kewilaa dkk (2014), meskipun lesitin dan lipoprotein yang terkandung dalam kuning telur berguna untuk melindungi spermatozoa

dari cekaman dingin, akan tetapi dengan bertambah lamanya penyimpanan, akan terjadi penurunan kualitas spermatozoa.

Tingginya persentase integritas membran plasma spermatozoa perlakuan P3 ( $50,63 \pm 5,81\%$ ) pada waktu simpan jam ke-72, diduga berhubungan dengan kemampuan antioksidan dalam menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada membran spermatozoa sebagai akibat meningkatnya senyawa oksigen reaktif selama simpan dingin. Hal ini sesuai dengan Chatterjee *et al* (2017) yang menyatakan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun kelor menunjukkan peningkatan yang signifikan terhadap kadar testosteron dan penurunan peroksidasi lipid dalam jaringan. Aslam, Dasrul, dan Rosmaidar (2014) menyebutkan bahwa vitamin C merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai antioksidan larut dalam lemak yang mampu menghambat aktivitas senyawa oksigen reaktif dan mencegah terjadinya reaksi berantai antara senyawa oksigen reaktif dengan asam lemak tak jenuh majemuk yang terdapat pada membran plasma spermatozoa. Vitamin C juga mampu bekerja di dalam dan di luar dinding sel sehingga dapat mengurangi atau mencegah peroksidasi lipid secara lebih luas.

Kualitas semen kambing Boer selama penyimpanan dingin terus menerus mengalami penurunan dan akhirnya spermatozoa akan mati. Penambahan ekstrak daun kelor dalam susu skim kuning telur mampu menghambat penurunan kualitas semen, dan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor memiliki kualitas semen yang lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol. Penurunan kualitas semen ini diduga disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu menurunnya kualitas pengencer (semakin asam) akibat pengaruh penimbunan asam laktat hasil proses metabolisme.

Bertambahnya radikal bebas yang terus-menerus terbentuk dan mengakibatkan fungsi lesitin dan lipoprotein tidak cukup efektif lagi sehingga akan mempercepat kerusakan membran plasma spermatozoa. Hafez (2004) dalam Lubis dkk (2013) menyatakan bahwa di dalam plasma semen kambing terdapat enzim *fosfolipase A2* sebagai enzim yang menghidrolisis lesitin kuning telur sehingga menyebabkan terjadinya reaksi akrosom dini dan mengakibatkan spermatozoa lebih cepat rusak.

Proses metabolisme sel tubuh secara normal akan menghasilkan radikal bebas. Reaksi radikal bebas dikenal dengan terbentuknya peroksidasi lipid yang menyebabkan terganggunya integritas membran plasma spermatozoa. Kerusakan membran plasma akan berlanjut pada bagian internal sel sehingga dapat menurunkan kualitas spermatozoa yaitu terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Menurut Moussa (2008) radikal bebas yang diproduksi secara terus-menerus di dalam tubuh sebagai hasil sampingan dari proses metabolisme sel normal, namun beberapa kondisi diketahui dapat mengganggu keseimbangan antara produksi radikal bebas dan mekanisme pertahanan sel.

Pada proses respirasi mitokondria, molekul oksigen penting untuk melengkapi metabolisme glukosa dan substrat lain selama produksi ATP. Proses respirasi akan menghasilkan produk sampingan berupa radikal bebas superoksida, hal ini karena selama rangkaian fosforilasi oksidatif normal sekitar 2-4% dari semua oksigen yang dikonsumsi dikonversi menjadi radikal bebas superoksida (Evans *et al.*, 2002 dalam Kristina, Sartono, dan Rusdi., 2016). Susilowati, (2008) menyatakan bahwa radikal bebas yang bereaksi dengan oksigen akan menghasilkan ROS, sehingga akan menghasilkan peroksidasi

lemak. Apabila terjadi produksi radikal bebas secara berlebih pada spermatozoa akan mengakibatkan stress oksidatif. ROS ini dapat merusak ikatan rangkap pada asam lemak sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada DNA dan protein.

Penambahan ekstrak daun kelor dalam pengencer susu skim kuning telur untuk pengenceran semen kambing Boer memiliki kualitas semen yang lebih baik. Hal ini diduga komponen aktif dalam daun kelor mampu menangkal radikal bebas, sehingga dapat mengurangi ROS dan peroksidasi lemak. Menurut Sreelatha *and* Padma (2009) *dalam* Ojo *and* Abdurrahman (2017) antioksidan ini efektif dalam mencegah kerusakan oksidatif dengan meningkatkan enzim antioksidan yang mengurangi produksi radikal bebas dan peroksidasi lipid. Nimse *and* Pal (2015), menambahkan bahwa antioksidan adalah zat yang mencegah efek radikal bebas pada saat yang sama memperlambat atau menghambat kerusakan sel, oleh karena itu mampu menjadi tindakan pencegahan terhadap efek merusak dari radikal bebas terhadap komponen seluler.

## **BAB V**

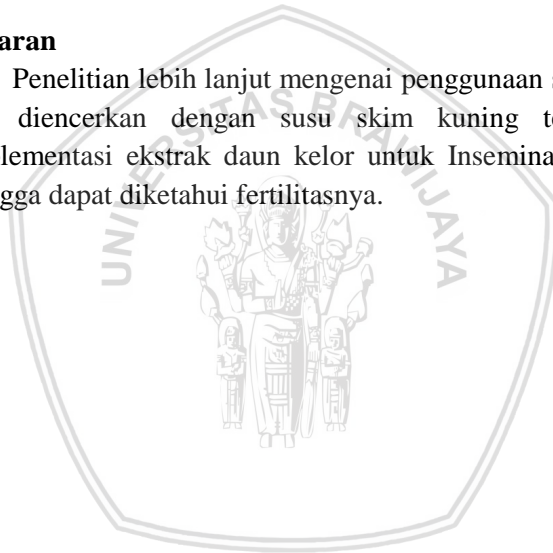
### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Suplementasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebesar 5% dalam pengencer susu skim kuning telur merupakan perlakuan terbaik dalam mempertahankan kualitas semen kambing Boer selama penyimpanan dingin.

#### **5.2 Saran**

Penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan semen cair yang diencerkan dengan susu skim kuning telur yang disuplementasi ekstrak daun kelor untuk Inseminasi Buatan, sehingga dapat diketahui fertilitasnya.





## DAFTAR PUSTAKA

- Abavisani, A., J. Arshami., A. A. Naserian., M. A. S. Kandelousi., and M. Azizzadeh. 2013. Quality of Bovine Chilled or Frozen Thawed Semen After Addition of Omega-3 Fatty Acids Supplementation to Extender. *International Journal of Fertility and Sterility*. Vol 7 (3): 161 – 168
- Abu, A. H., T. Ahemen., and P. Ikpechukwu. 2013. The Testicular Morphometry and Sperm Quality of Rabbit Bucks Fed Graded Levels of *Moringa oleifera* Leaf Meal (MOLM). *Agrosearch*. Vol 12 (1): 49 – 56
- Adeyemi, O. S., and T. C. Elebiyo. 2014. *Moringa oleifera* Supplemented Diets Prevented Nickel-Induced Nephrotocicity in Wistar Rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*. Vol 4 (2): 1 – 8
- Afolabi, A. O., H. A. Aderoju., and A. Alagbonsi. 2013. Effects of Methanolic Extract of *Moringa Oleifera* Leaves On Semen and Biochemical Parameters in Cryptorchid Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. Vol 10 (5): 230 - 235
- Agustian, M.F., M. N. Ihsan., dan N. Isnaini. 2014. Pengaruh Lama Simpan Semen dengan Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur Pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol 15 (2): 1 – 6

- Akomolafe, S. F., G. Oboh., A. A. Akindahunsi., A. J. Akinyemi., and O. Adeyanju. 2012. Inhibitory Effect of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* and *Newbouldia laevis* Leaves on Ferrous Sulphate and Sodium Nitroprusside Induced Oxidative Stress in Rat's Testes *in Vitro*. Open Journal of Medicinal Chemistry. Vol 2 (4): 119 - 128
- American Boer Goat Association. 2001. <http://www.cometothefarm.com/link-pages/Goats/Associations/>. Diakses pada 4 April 2018
- Aminah, S., T. Ramdhan., dan M. Yanis. 2015. Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). Buletin Pertanian Perkotaan. Vol 5 (2): 35 – 44
- Anastasia, Y. I., I. Isnaini., dan S. Wahjuningsih. 2015. Pengaruh Level Filtrat Kecambah Kacang Hijau dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Kualitas Semen Cair Pejantan Sapi Madura Pada Penyimpanan Suhu Ruang. Jurnal Ternak Tropika. Vol 1 (2): 55 – 63
- Anwar, F., and U. Rashid, 2007. Physico-chemical Characteristics of *Moringa oleifera* Seeds and Seed Oil from a Wild Provenance of Pakistan. Pak. J. Bot. Vol 39 (5): 1443 – 1453.
- Ardiani, W., I. Pratama., T. Destriana., M. H. Taufiq., S. Rahman., dan I. Firdaus. 2015. Pengaruh Berbagai Macam Bahan Pengencer Semen Terhadap Daya Tahan Spermatozoa Itik (*Anas moscha*). Jurnal Reproduksi Ternak: 1- 5. <https://www.scribd.com/doc/233737144/Pengenceran-Semen>. Diakses pada 21 Mei 2018

- Arora, D. S., J. G. Onsare., and H. Kaur. 2013, Bioprospecting of Moringa (*Moringaceae*): Microbiological Prespective. Journal of Pharmacognosy and Phytocemistry. Vol 1 (6): 193 - 215
- Aslam, H. A., Dasrul., dan Rosmaidar. 2014. Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Andromed® Terhadap Persentase Motilitas dan Membran Plasma Uterus Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan. Jurnal Medika Veterina. Vol 8 (1): 20 - 26
- Audia, R. P., M. A. Salim., N. Isnaini., dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau sebagai Bahan Pengencer yang Ditambah 10% Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. Jurnal Ternak Tropika. Vol 18 (1): 58-68
- Ax, R., M. Dally., B. Didion., R. Lenz., C. Love., D. Varner., Hafez, dan M. Bellin. 2008. Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animal. 7<sup>th</sup> Edition. Edited by Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365-370. ISBN: 978068-330-577-7
- Barati, F., A. A. Papahn., M. Afrough., and M. Barati. 2011. Effect of Tyrode's Solution Osmolarities and Milk on Bull Sperm Storage Above Zero Temperatures. Iranian Journal of Reproductive Medicine. Vol 9 (1): 25 - 30
- Cahyadi, T. R. T., Christiyanto, M., dan Setiatin, E. T. 2016. Persentase Hidup dan Abnormalitas Sel Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah (PE) dengan Pakan yang Disuplementasi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Animal Agriculture Journal. Vol 5 (3): 23 - 32

- Chatterjee, P. K., V. N. M. Anantharaya., R.K Shiva., N. A. Kumar., S. B. Shetty., S. V. Budihal., M. R. Bhat., and Kunai. 2017. Pre and Post-Treatment Effects: Estimation of Serum Testosterone and Lipid Peroxidation Levels on *Moringa olifera* Extract Induced Cadmium Exposed Rats. *Pharmacognosy Journal*. Vol 9 (6): 846 - 849
- Crespilho, A. M., M. F. Sa Filho., J.A Dell'Aqua. Jr., M. Nichi., G. A. Monteiro., B. R. Avanzi., A. Martins., and F. O. Papa. 2012. Comparison of in Vitro and in Vivo Fertilizing Potential of Bovine Semen Fozen in Egg Yolk or New Lecithin Based Extenders. *Livestock Science*. Vol 149: 1 – 6
- Dafaalla, M. M., S. Abass., A. Abdoun., A. W. Hassan., and O. F. Idris. 2017. Effect of Ethanol Extract of *Moringa oleifera* Seeds On Fertility Hormone and Sperm Quality of Male Albino Rats. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*. Vol 4 (4): 222 - 226
- Das, A. K., V. Rajkumar., A. K. Verma., and D. Swarup. 2012. *Moringa oleifera* Leaves Extract: A Natural Antioxidant for Retarding Lipid Peroxidation in Cooked Goat Meat Patties. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol 47: 585 – 591
- Devendra, C., and B. Marca. 2011. *Goat Production in the Tropics* (Ed.2). Commonwealth Agricultural Bureaux, 1983 : University of Wisconsin – Madison. Diakses pada 2 April 2018. [https://books.google.co.id/books/about/Goat\\_production\\_in\\_the\\_tropics.html?id=DXEvAQAAMAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.co.id/books/about/Goat_production_in_the_tropics.html?id=DXEvAQAAMAAJ&redir_esc=y)

- Dewi, A. S., Y. S. Ondho., dan E. Kurnianto. 2012. Kualitas Semen Berdasarkan Umur Pada Sapi Jantan Jawa. *Animal Agriculture Journal*. Vol 1 (2): 126 – 133
- Dhanda, J. S., D. G. Taylor., P. J. Murray., R. B. Pegg., and P. J. Shund. 2003. Goat Meat Production: Present Status and Future Possibilities. *Asian-Australian Journal Animal Science*. Vol 16 (12): 1842 - 1852
- Diantoro, A., M. Rohman., R. Budiarti., dan H. T. Palupi. 2015. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifer*, L.) Terhadap Kualitas Yoghurt. *Jurnal Teknologi Pangan*. Vol 6 (2): 59 – 66
- Duncan, N. 2018. Able Acres Boer Goats. [http://www.tctc.com/~amfuture/bucks/boer\\_goats\\_MaximumImpact.html](http://www.tctc.com/~amfuture/bucks/boer_goats_MaximumImpact.html). Diakses pada 18 Mei 2018
- Elballat, S. E. 2016. Ameliorative Role of *Moringa oleifera* Plant Extract against Zinc Oxide Nanoparticles Induced Sperm and Sex Hormones Abnormalities in Male Albino Rats. *International Conference on Food, Agricultural and Biological Sciences*. Hal: 41 – 45. <http://uruae.org/siteadmin/upload/AE1216236.pdf>. Diakses pada 28 April 2018.
- Elhammali, N. S. A., A. M. Alqurashi., M. T. Ibrahim., and A. S. Elsheikh. 2013. Puberty of Crossbred Male Goat Kids. *Journal of American Science*. Vol 9 (4): 95 – 99
- El-Desoky, N. I., N. M. Hashem., A. Elkomy., and Z. R. Abo-elezz. 2017. Physiological Response and Semen Quality of Rabbit Bucks Supplemented with Moringa Leaves Ethanolic Extract During Summer Season. *Animal*. Vol 11 (9): 1549 – 1557

- Fatoba, T. A., O. I. Faleyimu., and A. J. Adebayo. 2013. The Effects of Increasing Aqueous Root Extract of *Moringa oleifera* On Sperm Production of Albino Rats. *Agrosearch*. Vol 13 (1): 29 – 36
- Feradis, 2009. Peranan Antioksidan dalam Pembekuan Semen. *Jurnal Peternakan*. Vol 6 (2): 63 –70
- Fernandes, G. H. C., Pd. T. C. de Carvalho., A. J. Serra., A. M. Crespilho., J. P. S. Peron., C. Rossato., E. C. P. Leal-Junior., and R. Albertini. 2015. The Effect of Low-Level Laser Irradiation on Sperm Motility, and Integrity of Plasma Membrane and Acrosome in Cryopreserved Bovine Sperm. *PloS ONE*. Vol 10 (3): 1 – 11
- Foidl, N., H. P. S. Makkar., and K. Becker. 2001. The Potential of *Moringa oleifera* for Agricultural and Industrial Uses. Mesir: Dar Es Salaam.
- Fonseca, J. F., C. A. A. Tores., V. V. Mafflli., A. M. Borges., A. D. F. Santos., M. T. Rodrigues., and R. F. M. Oliveira. 2005. The Hypoosmotic Swelling Test in Fresh Goat Spermatozoa. *Anim. Reprod*. Vol 2 (2): 139 – 144
- George, O. S., F. I. Ologbose., and O. A. I. Akintola. 2017. Sperm Characteristics of Rabbit Bucks Fed Graded Levels of Moringa (*Moringa Oleifera*) Leaf Meal. *Scientia Agriculturae*. Vol 20 (3): 67 - 70
- Hartono, M. 2010. Kualitas Semen Kambing Peranakan Boer. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol 10 (1): 52 – 58

- Hardijanto., S. Susilowati., T. Hernawati., T. Sardjito., dan T. W. Suprayogi. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Surabaya: Airlangga University Press
- Hasbi., H. Sonjaya., dan S. Gustina. 2011. Pengaruh Medium Pemisah, Penambahan Ekstrak Kopi Sebelum Proses Pemisahan Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Peranakan Ettawa. JITP. Vol 1 (2): 107-118
- Husin, N., T. Suteky., dan Kususiyah. 2007. Uji Kualitas Semen Kambing Nubian dan Peranakannya (Kambing Nubian X PE) serta Kambing Boer Berdasarkan Lama Penyimpanan. Jurnal Sain Peternakan Indonesia. Vol 2 (2): 57 – 65
- Ihsan, M. N. 2011. Penggunaan Telur Itik sebagai Pengencer Semen Kambing. Jurnal Ternak Tropika. Vol 12 (1): 10 - 14
- . 2013. Pembekuan Vitrifikasi Semen Kambing Boer dengan Tingkat Gliserol Berbeda. J. Ternak Tropika. Vol 14 (2): 38-45
- Indriani., T. Susilawati., dan S. Wahjuningsih. 2013 Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode *Water Jacket* dan *Free Water Jacket*. Jurnal Veteriner. Vol. 14 (3): 379 - 386
- Inonie, R. I., L. O. Baa., dan T. Saili. 2016. Kualitas Spermatozoa Kambing Boerawa dan Kambing Kacang Pada Penggunaan Tris-Kuning Telur yang Berbeda. JITRO. Vol 1 (1): 52 – 64

- Innecco, D. 2018. Cuáles son los beneficios de la moringa. <https://salud.uncomo.com/articulo/cuales-son-losbeneficios-de-la-moringa-34319.html>. Diakses pada 18 Mei 2018
- Istanty, A. S., M. A. Salim., N. Isnaini., dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh Penggantian *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan Putih Telur dalam Pengencer Dasar CEP-2 Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Pada Simpan Dingin. Jurnal Ternak Tropika. Vol 18 (1): 1 – 9
- Kasolo, J. N., G. S. Bimeya., L. Ojok., J. Ochieng., and J. W. Ogwal-okeng. 2010. Phytochemicals and Uses of *Moringa oleifera* Leaves in Ugandan Rural Communities. Journal of Medical Plant Research. Vol. 4 (9): 753 – 757
- Kewilaa, A. I., Y. S. Ondho., dan E. T. Setiatin. 2014. Efisiensi Penambahan Kuning Telur dalam Pembuatan Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Semen Cair Domba Ekor Tipis (DET). AGRILAN. Vol 2 (2): 1 – 12
- Khalifa, T., and Lymberopoulos, A. 2013. 2013. Changeability of Sperm Chromatin Structure During Liquid Storage of Bovine Semen in Milk Egg Yolk and Their Relationships to Field Fertility. Cell Tissue Bank. Vol 14: 687 – 698
- Kristina, H., N. Sartono., dan Rusdi., 2016. Kadar Peroksida Lipid dan Aktivitas Superoksida Dismutase Serum Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. Jurnal Bioma. Vol 12 (1): 1 – 11



- Kumala, I. N., Masfufatun., dan E. Devi, D. R. 2016. Potensi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Sebagai Hepatoprotektor Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksis. Jurnal Ilmiah Kedokteran. Vol 5 (1): 58 - 66
- Kurniawan, I. Y., F. Basuki., dan T. Susilawati. 2013. Penambahan Air Kelapa dan Gliserol Pada Penyimpanan Sperma Terhadap Motilitas dan Fertilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture Management and Technology. Vol 2(1): 51 – 56
- Lessard, C., S. Parent., P. Leclerc., J. L. Bailey., and R. Sullivan. 2000. Cryopreservation Alters the Levels of the Bull Sperm Surface Protein P25b. Journal of Andrology. 21 (5): 700 - 707
- Lestari, T. P. S., M. N. Ihsan., dan N. Isnaini. 2014. Pengaruh Waktu Simpan Semen Segar dengan Pengencer Andromed Pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. Jurnal Ternak Tropika. Vol. 15 (1): 43 - 50
- Lubis, T.M., Dasrul., C. N. Thasmi., dan T. Akbar. 2013. Efektifitas Penambahan Vitamin C Dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer setelah Penyimpanan Dingin. Jurnal S. Pertanian. Vol 3 (1): 347 – 361
- Mardiyah, E. 2001. Tehnik Pengenceran Pada Pembuatan Chilling Semen Sapi. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti Balai Penelitian Ternak*. Hal: 130 - 137
- Mason, I. L. 2002. American Boer Goat Association. Brochure. New York

- Melo, V., N. Vargas., T. Quirino., and C. M. C. Calvo. 2013. *Moringa oleifera* L. – An Underutilized Tree with Macronutrients for Human Health. Emir. J. Food Agric. Vol 25 (10): 785-789
- Misra, A., S. Srivastava., and M. Srivastava. 2014. Evaluation of Anti Diarrheal Potential of *Moringa oleifera* (Lam.) Leaves. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Vol 2 (5): 43 – 46
- Mohammed, K. M., M. H. Khalil., and A. M. Al-Saef. 2012. Effect of Genetic Group, Semen Diluents and Freezing Regimens On Sperm Freezability and Goats Reproductivity. Assiut Vet. Med. J. Vol 58 (135): 7 – 16
- Moussa, S.A. 2008. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. Romanian J. Biophys. Vol 18 (3): 225-236
- Moyo, B., M. P. Julius., and M. Voster. 2012. Antimicrobial Activities of *Moringa oleifera* Lam Leaf Extracts. African Journal of Biotechnology. Vol 11 (11): 2797-2802
- Mugiyati., Muhammad, A. S., Nurul, I., dan Trinil, S. 2017. Pengaruh Air Kelapa Merah Muda dan Tua sebagai Pengencer Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Penyimpanan Dingin. Jurnal Ternak Tropika. Vol 18 (1): 20 - 26
- Munazaroh, A. M., S. Wahjuningsih., dan G. Ciptadi. 2013. Uji Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Hasil Pembekuan Menggunakan *Mr. Frosty*<sup>®</sup> Pada Tingkat Pengenceran Andromed<sup>®</sup> Berbeda. Jurnal Ternak Tropika. Vol 14 (2): 63-71

- Muthukumar, M., B. M. Naveena., S. Vaithiyathan., A. R. Sen., and K. Sureshkumar. 2012. Effect of Incorporation of *Moringa oleifera* Leaves Extract on Quality of Ground Pork Patties. *Journal of Food Science and Technology*. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-0120831-8>. Diakses pada 28 April 2018
- Nayak, G., A. Vadinkar., S. Nair., S. G. Kalthur., A. S. D'Souza., P. K. Shetty., S. Mutalik., M. M. Shetty., G. Kalthur., and S. K. Adiga. 2015. Sperm Abnormalities Induced by Pre-Pubertal Exposure to Cyclophosphamide are Effectively Mitigated by *Moringa oleifera* Leaf Extract. *Andrologia*. Vol 48 (2): 125 - 136
- Nasich, M. 2010. Analisis Fenotip dan Genotip Kambing Hasil Persilangan antara Pejantan Kambing Boer dengan Induk Kambing Lokal. Disertasi. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Nimse, S. B., and D. Pal. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. *RSC Adv*. Vol 5: 27986 - 28006
- Ojo, O. A., and K. O. Abdurrahman. 2017. Effect of *Moringa oleifera* Leaf Extract (Mole) on some Reproductive Parameters of Rabbits Reared in a Semi-Humid Environment. *Global Journal of Science Frontier Research: D Agriculture and Veterinary*. Vol 17 (4): 6 - 12
- Oparinde, D. P., and A. S. Atiba. 2014. *Moringa oleifera* Leaf Prevents Oxidative Stress in Wistar Rats. *European Journal of Medicinal Plants*. Vol 4 (9): 1150 - 1157

- Pamungkas, F. A., A. Batubara., dan Anwar. 2014. Kriopreservasi Spermatozoa Kambing Boer: Perbandingan Dua Bahan Pengencer Terhadap Kualitas *Post Thawing* dan Kemampuan Fertilitasnya. *JITV*. Vol 10 (2): 130 – 137
- Purwoistri, R. F., T. Susilawati., dan S. Rahayu. 2013. Membran Spermatozoa Hasil Seksing Gradien Albumin Berpengencer Andromed dan *Cauda Epididymal Plasma-2* Ditambahkan Kuning Telur. *Jurnal Veteriner*. Vol 14 (3): 371 - 378
- Putri, R. D. A., M. Gunawan., dan E. M. Kaiin. 2015. Uji Kualitas Sperma Sexing Sapi Friesian Holstein (FH) Pasca Thawing. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. Vol 1 (8): 2057 – 2061
- Rahmawati, M. A., T. Susilawati., dan M. N. Ihsan. 2015. Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku Pada Bangsa Sapi dan Bulan Penampungan yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. Vol 25 (3): 25 - 36
- Rajanandh, M. G., and J. Kavitha. 2010. Quantitative Estimation of  $\beta$ -Sitosterol, Total Phenolic and Flavonoid Compounds in the Leaves of *Moringa oleifera*. *International Journal of PharmTech Research CODEN (USA): IJPRIF*. Vol 2 (2): 1409 – 1414
- Raji, A. Y., and A. A. Njidda. 2014. Gonadal and Extra-Gonadal Sperm Reserves of the Red Sokoto Goats Fed *Moringa oleifera* Supplemented Diets. *International Journal of Agriculture Biosciences*. Vol 3 (2): 61 – 64

- Rasul, Z., N. Ahmad, dan M. Anzar. 2001. Changes in Motion Characteristic, Plasma Membran Integrity and Acrosom Morphology During Cryopreservation of Buffalo Spermatozoa. *J. Biol. Reprod.* Vol 65:217-224.
- Ridwan. 2008. Pengaruh Jenis Pengencer Semen Terhadap Motilitas Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Ayam Buras Pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Agroland*. Vol 15 (3): 229 - 235
- . 2009. Pengaruh Pengencer Semen Terhadap Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing Lokal Pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Agroland*. Vol 16 (2): 187 – 192
- Rosmaidar., Dasrul., dan T. M. Lubis. 2013. Pengaruh Penambahan Sari Buah Tomat dalam Media Pengencer Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 3-5°C. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. Vol 1(1): 7 - 17
- Sades, A. M., N. Isnaini., dan S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh Suplementasi Filtrat Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus L.*) Terhadap Kualitas Semen Sapi Simmental dalam Pengencer *Skim Milk* Pada Suhu Dingin. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol. 17 (1): 1 – 10
- Shah. M. A., S. J. D. Bosco., and S. A. Mir. 2015. Effect of Moringa oleifera Leaf Extract on The Physicochemical Properties of Modified Atmosphere Packaged Raw Beef. *Food Packaging and Shelf Life*. Vol 3: 31 – 38

- Syahrin, S., C. Kairupan., dan L. Loho. 2016. Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar yang Diberi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Setelah Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>). Jurnal e-Biomedik (eBm). Vol 4 (2): 1 - 5
- Sujoko. H., M. A. Setiadi., dan A. Boediono. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. Jurnal Veteriner. Vol 10 (3): 125 – 132
- Sokunbi, O. A., O. S. Ajani., A. A. Lawanson., and E. A. Amao. 2015. Antibiotic Potential of Moringa Leaf (*Moringa oleifera* Lam.) Crude Extract in Bull Semen Extender. European Journal of Medicinal Plants. Vol 9(2): 1 - 8
- Susilawati, T. 2011. Spermatology. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press).
- \_\_\_\_\_. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press). ISBN: 978-602-203458-2.
- Susilowati, S. 2008. Komplek Insulin Like Growth Faktor-I Mempengaruhi Presentase Membran Plasma Utuh dan Kadar Malondialdehid Spermatozoa. Jurnal Veteriner. Vol 9 (4): 168 - 175
- Sutama, I. K., B. Setiadi., P. Situmorang., U. Adiati., I. G. M. Budiarsana., T. Kostaman., Maulana., Mulyawan., dan R. Sukmana. 2000. Uji Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Ettawah dan Kambing Boer. Laporan Bagian Proyek Rekayasa Teknologi Peternakan ARMP-II. Hal : 88 – 111

- Suyadi., A. Rachmawati., dan N. Iswanto. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 5°C. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. Vol 22 (3):1 - 8
- Syahrin, S., Carla, K., dan Lily, L. 2016. Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar yang Diberi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Setelah Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>). Jurnal e-Biomedik. Vol 4 (2): 1 – 5
- Toma, A., and S. Deyno. (2014). Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Moringa oleifera*. International Journal of Pharmacognosy. Vol 1: 222 - 231
- Triana, I. N. 2006. Pengaruh Waktu Inseminasi Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Pasca Inseminasi Pada Kambing. Berk. Penel. Hayati. Vol 11: 147 – 150
- Verma, A.R., M. Vijayakumar., C. S. Mathela., and C. V. Rao. 2009. In Vitro and in Vivo Antioxidant Properties of Different Fractions of *Moringa oleifera* Leaves. Food Chemical Toxicol. Vol 47: 2196 - 2201
- Wahyuni, S., M. A. Asrikan., M. C. U. Sabana., S. W. N. Sahara., T. Murtiningsih., dan R. Putrinigrum. 2013. Uji Manfaat Daun Kelor (*Moringa oleifera*) untuk Mengobati Penyakit Hepatitis B. Jurnal Kesmadaska. Vol 3 (7): 100 – 103
- Widjaya, N. 2011. Pengaruh Pemberian Susu Skim dengan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi pada Suhu Penyimpanan 5° C. Sains Peternakan. Vol. 9 (2): 72 - 76

- Yameogo, W. C., M. D. Bengaly., A. Savadogo., P. A. Nikièma., and S. A. Traoré. 2011. Determination of Chemical Composition and Nutritional Values of *Moringa oleifera* Leaves. Pakistan Journal of Nutrition. Vol 10 (3): 264 – 268
- Yuliani, N. Y., dan D. P. Dienina. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Jurnal Info Kesehatan. Vol 14 (2): 1060 – 1082
- Yusuf, T. L., R. I. Arifiantini., dan N. Rahmiwati. 2005. Daya Tahan Semen Cair Kambing Peranakan Etawah dalam Pengencer Kuning Telur dengan Kemasan dan Konsentrasi Spermatozoa yang Berbeda. J. Indon. Tropic. Anim. Agric. Vol 30 (4): 217 – 223
- Zhang, C., L. Yang and Z. Shen. 2008. Variance Components and Genetic Parameter for Weight and Size at Birth in the Boer Goat. Livestock Science. 115: 73-79
- Zubair, M., Laeeq, L. A. Lodhi., E. Ahmad., and G. Muhammad. 2013. Hypoosmotic Swelling Test as Screening for Evaluation of Semen of Bull. Journal of Entomology and Zoology Studies. Vol 1 (6): 124 - 12